

EINFLUSS VON ANÄSTHESIEN MIT LOKALER
HYPERTHERMIE UND APPLIKATION VON
DOXORUBICIN IN THERMOSENSITIVEN LIPOSOMEN
AUF DIE INTEGRITÄT DER NIERENTUBULI BEI KATZEN
MIT FIBROSARKOM EVALUIERT MIT DEM BIOMARKER
RETINOL-BINDING PROTEIN

von Valerie Susanne Stoz

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

EINFLUSS VON ANÄSTHESIEN MIT LOKALER
HYPERTHERMIE UND APPLIKATION VON
DOXORUBICIN IN THERMOSENSITIVEN LIPOSOMEN
AUF DIE INTEGRITÄT DER NIERENTUBULI BEI KATZEN
MIT FIBROSARKOM EVALUIERT MIT DEM BIOMARKER
RETINOL-BINDING PROTEIN

von Valerie Susanne Stoz

aus Böblingen

München 2015

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der kleinen Haus- und Heimtiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Johannes Hirschberger
Mitbetreuung durch: Dr. René Dörfelt

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatte: Univ.-Prof. Dr. Johannes Hirschberger

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Joachim Gabius

Tag der Promotion: 18. Juli 2015

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	4
1.	Niere.....	4
1.1.	Akute Nierenschädigung in der Humanmedizin	4
1.1.1.	Ursachen für renale Azotämie und intrinsisch renale Erkrankungen.....	5
1.1.1.1.	Akute tubuläre Schäden und Nekrose	6
1.1.1.1.1.	Hypotension und Ischämie als Auslöser für akute Nierenschädigungen	7
1.1.1.1.2.	Anästhesie und akute Nierenschädigungen	8
1.1.1.1.3.	Mechanismen der Schädigung durch Ischämie	9
1.1.1.1.4.	Mechanismen der Schädigung durch nephrotoxische Substanzen.....	12
1.2.	Akute Nierenschädigung und Anästhesien bei Katzen	17
2.	Biomarker für akute Nierenschädigungen	20
2.1.	Harnenzyme als Biomarker	21
2.1.1.	N-Acetyl- β -glukosaminidase	21
2.1.2.	Glutathion-S-Transferase	22
2.1.3.	Andere Harnenzyme.....	22
2.2.	Mikroalbuminurie	22
2.3.	Kidney injury molecule-1	23
2.4.	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin.....	24
2.5.	Interleukin-18 und Fettsäurebindungsproteine	24
2.6.	Harnproteine mit niedermolekularem Gewicht.....	25
2.6.1.	Alpha ₁ -Mikroglobulin	25
2.6.2.	Beta ₂ -Mikroglobulin	26
2.6.3.	Cystatin-C	26
2.6.4.	Retinol-binding Protein	27
2.6.4.1.	Struktur.....	28
2.6.4.2.	Retinol-binding Protein-Transthyretin-Interaktion	28
2.6.4.3.	Retinol-binding Protein-Retinol-Interaktion.....	29
2.6.4.4.	Retinol-binding Protein bei verschiedenen Spezies.....	30
2.6.4.5.	Produktion und Sekretion durch die Leber	30

2.6.4.6.	Rezeptoren und Recycling in der Niere	31
2.6.4.7.	Retinol-binding Protein als Biomarker für Nierenschädigungen.....	32
2.6.4.8.	Retinol-binding Protein beim Hund	34
2.6.4.9.	Retinol-binding Protein bei der Katze.....	36
III.	MATERIAL UND METHODEN	38
1.	Studiendesign.....	38
2.	Probengewinnung und Urinanalyse	39
3.	Analyse des Retinol-binding Proteins.....	40
4.	Statistische Analyse	41
IV.	ERGEBNISSE	42
1.	Serumkreatininwerte und Urinanalyse.....	42
2.	Retinol-binding Protein	43
3.	Veränderungen zwischen den Anästhesiesitzungen.....	45
4.	Einfluss des Blutdrucks	46
5.	Einfluss von Doxorubicin.....	47
6.	Weitere Variablen	48
V.	DISKUSSION	49
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	54
VII.	SUMMARY.....	56
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	57
IX.	ANHANG	71
1.	Allgemeine Daten, Serumkreatinin und Blutdruck	71
2.	Kreatininkonzentrationen im Urin, Retinol-binding Protein-Konzentrationen sowie Retinol-binding Protein-Kreatinin-Quotienten im Urin	73
3.	Urinspezifisches Gewicht, Urinteststreifen und Urinsediment.....	75
	DANKSAGUNG	77

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ANS	Akute Nierenschädigung	GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
ATN	Akute tubuläre Nekrose		
ATP	Adenosintriphosphat	GST	Glutathion-S- Transferase
BSA	Body Surface Area		
bzw.	beziehungsweise	H	Wasserstoff
c	Kreatinin	HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
Cl	Chlorid		
CNS	Chronische Nierenschädigung	ICAM	interstitielles Zelladhäsionsmolekül
COX	Cyclooxygenase	IgA	Immunglobulin A
CRBP	zelluläres Retinol- binding Protein	IL	Interleukin
D	Doxorubicin	iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid- synthase
Diff	Differenz		
DNA	Desoxyribonukleinsäure	IRIS	International Renal Interest Society
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay	K	Kalium
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid- synthase	kD	kilo Dalton
ERBP	European Renal Best Practice	KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
etc.	et cetera	KIM	Kidney Injury Molecule
FABP	Fettsäurebindungs- protein	LDL	Low Density Lipoprotein
		LED	liposome-encapsulated doxorubicin

LRAT	Lecithin Retinol Acyltransferase	USG	Urin spezifisches Gewicht
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck	VCAM	vaskuläres Zelladhäsionsmolekül
Min	Minimum	z.B.	zum Beispiel
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure	α_1 M	α_1 -Mikroglobulin
		β_2 M	β_2 -Mikroglobulin
Na	Natrium		
NAG	N-Acetyl- β - glukosaminidase		
NEP	Neutrale Endopeptidase		
NGAL	Neutrophilengelatinase- assoziiertes Lipocalin		
NO	Stickstoffmonoxid		
NSAID	Nicht-steroidale Antiphlogistika		
OP	Operation		
RBF	Renaler Blutfluss		
RBP	Retinol-binding Protein		
ROS	Reaktive oxygene Spezies		
β_2 M	β_2 -Mikroglobulin		
TNF	Tumornekrosefaktor		
TSL	thermosensitive Liposomen		
u	urinary		
UP/C	Urin Protein/Kreatinin		

I. EINLEITUNG

Die Nieren sind bei Mensch und Säugetieren ein wichtiges Organ, welches für die Aufrechterhaltung des Blutvolumens und Blutdrucks, den Säure-Basen-Haushalt, die Elektrolythomöostase, die Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen und die Regulation der Erythropoese verantwortlich ist. Eine Schädigung der Nieren stellt eine Beeinträchtigung in der Ausführung dieser lebensnotwendigen Aufgaben dar und je nach Ausmaß der Schädigung kann die verminderte Nierenfunktion lebensbedrohlich sein. Auslöser für eine akute Nierenschädigung (ANS) können Medikamente, Nephrotoxine und Infektionen, sowie hämodynamische und vaskuläre Veränderungen sein. (FERGUSON et al., 2008) So sind die Nieren auf einen adäquaten Blutdruck und renalen Blutfluss, sowie eine ausreichende Sauerstoffversorgung angewiesen. Die renale Autoregulation des Blutdrucks gewährt diese Bedürfnisse über eine relativ weite Spanne des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP). (KIRCHHEIM et al., 1987b) Sinkt der MAP jedoch soweit ab, dass die Nieren nicht mehr in der Lage sind diese Autoregulation aufrecht zu erhalten, kann es durch Ischämie und Sauerstoffmangel zu einer ANS kommen. So ist die Hypotension im Rahmen eines Schockgeschehens eine häufig mit einer ANS einhergehende Komplikation. (BADIN et al., 2011) Auch bei Anästhesien im Rahmen von Operationen kommt es infolge von Hypotension, Anämie, Ischämie und Hypoxämie immer wieder zu ANS. (TALLGREN et al., 2007; HAASE et al., 2012; ARONSON et al., 2013)

Die Diagnose einer ANS kann zum einen durch die Anamnese und klinische Untersuchung der Patienten, sowie durch labortechnische Methoden wie den Nachweis erhöhter Kreatinin- und Harnstoffwerte, einer verminderten glomerulären Filtrationsrate (GFR), einer Urinanalyse und bildgebender Diagnostik wie zum Beispiel Ultraschall, sowie einem histologischen Nachweis gestellt werden. (THADHANI et al., 1996; ANDERSON und BARRY, 2004) Jedoch sind diese Methoden zum Teil invasiv, nicht sensitiv genug oder weisen die Schädigung erst in einem sehr späten Stadium nach. Aus diesem Grund wurde in den letzten Jahren intensiv an Biomarkern für ANS geforscht, welche ein möglichst frühzeitiges Erkennen und somit ein schnelles Entgegensteuern ermöglichen sollen. (ADIYANTI und LOHO, 2012) Einer dieser Biomarker ist das Retinol-binding Protein (RBP).

RBP ist ein Protein mit einem niedermolekularen Gewicht von 21 Kilodalton (kD) und wird in der Leber gebildet. RBP ist verantwortlich für den Transport von Retinol von der Leber in verschiedene periphere Gewebe. RBP zirkuliert im Blut in einem Komplex mit Transthyretin. Freies, nicht an Transthyretin gebundenes RBP wird in den Glomerula filtriert und in den Tubuli rezeptorvermittelt absorbiert. Somit können in physiologischem Urin nur sehr geringe Mengen RBP (uRBP) nachgewiesen werden. (GOODMAN, 1974, 1976; CHRISTENSEN et al., 1999) Verschiedene Studien aus der Humanmedizin untersuchten RBP als Biomarker, um eine frühe tubuläre Dysfunktion nachzuweisen, sowie als prognostischen Wert bei ANS. (BERNARD et al., 1987; HERGET-ROSENTHAL et al., 2004; CHE et al., 2010; ADIYANTI und LOHO, 2012) Mit Hilfe von RBP kann ein funktionaler Verlust der Nierentubuli nachgewiesen werden, bevor morphologische Veränderungen auftreten. (DE MATOS et al., 2010)

Auch die Nieren von Katzen sind anfällig für ANS. Die Ursachen hierfür sind ebenso wie beim Menschen schädigende Substanzen, Infektionen und hämodynamische Veränderungen, insbesondere die Hypotension. So kommt es immer wieder während Anästhesien bei Katzen aufgrund einer Vasodilatation, Hypovolämie und Medikamenten-induzierter negativer Inotropie des Herzens zu einem Blutdruckabfall. (HODGSON et al., 1998; GAYNOR et al., 1999; EGGER et al., 2009) und in manchen Fällen zu einer ANS. (GRAUER, 1996; WORWAG und LANGSTON, 2008) Auch in der Veterinärmedizin wurde uRBP als Biomarker für den Nachweise von Nierenschädigungen verwendet. VAN HOEK und Mitarbeiter (2008) wiesen nach, dass es bei Katzen mit chronischen Nierenschädigungen (CNS) zu erhöhten uRBP-Werten kommt. In einer Studie an Katzen validierten sie einen Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), um RBP im Urin von Katzen nachzuweisen. In dieser Studie wurde auch gezeigt, dass gesunde Katzen sehr niedrige uRBP-Werte aufweisen. (VAN HOEK et al., 2008) Es gibt keine Studien, welche den Einfluss von Anästhesien auf die Integrität der Nierentubuli anhand von uRBP bei Katzen untersucht haben.

Ziel dieser Studie war es anhand von uRBP zu untersuchen, ob einzelne oder mehrere Anästhesien bei Katzen einen Einfluss auf die Integrität der Nierentubuli haben. Die Katzen dieser Studie waren alle an einem Fibrosarkom erkrankt und

erhielten im Rahmen einer anderen Studie intravenös Doxorubicin, welches in Liposomen verkapselt war, unter gleichzeitiger lokaler Hyperthermie des Fibrosarkoms. Zudem sollte geklärt werden, ob das in Liposomen verkapselte Doxorubicin einen Einfluss auf die Integrität der Nierentubuli hat.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Niere

Die Nieren der Säugetiere übernehmen eine wichtige Aufgabe im Rahmen der Homöostase des Blutvolumens und der Regulierung des Blutdrucks (MATSUBARA, 2004; MCDONOUGH, 2010), des Gleichgewichts von Elektrolyten (PALM und CARLSSON, 2005), der Steuerung der Erythropoese (NAETS, 1960) und der Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Status (KIM, 2009). Darüber hinaus sind die Nieren verantwortlich für die Filtration, Sekretion und/oder Reabsorption vieler Substanzen (ITO et al., 2013), wie auch z.B. Harnstoff und Kreatinin (HAYMAN et al., 1933; HEMINGWAY, 1935). Bei einer Schädigung der Nieren kann es zu Beeinträchtigungen dieser wichtigen Nierenfunktionen kommen, welche je nach Ausmaß lebensbedrohlich sind. Nach der Dauer der beeinträchtigten Nierenfunktion werden die ANS und CNS unterschieden (NATIONAL KIDNEY, 2002; AD-HOC WORKING GROUP OF et al., 2012).

1.1. Akute Nierenschädigung in der Humanmedizin

In der Humanmedizin wird nach der European Renal Best Practice (ERBP) Vereinigung in Anlehnung an die Leitlinien der Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) die ANS als eine akute strukturelle und funktionelle Schädigung der Nieren beschrieben, welche zu einer eingeschränkten Urinausscheidung und einem Anstieg des Serumkreatininspiegels führt. Basierend auf dem Ausmaß dieser beiden Befunde wird die ANS in drei Schweregrade eingeteilt. Das Stadium 1 ist gekennzeichnet durch einen Anstieg des Serumkreatininspiegels um das 1,5 - 1,9- fache bezogen auf eine Basislinie oder durch einen Anstieg des Serumkreatininspiegels um 26,5 $\mu\text{mol/l}$ oder eine Urinausscheidung $< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ über sechs Stunden. Das Stadium 2 ist gekennzeichnet durch einen 2,0 - 2,9- fachen Anstieg des Serumkreatininspiegels bezogen auf eine Basislinie oder einer Urinausscheidung $< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ über zwei Zeiträume von jeweils sechs Stunden. Im Stadium 3 liegt ein Anstieg des Serumkreatininspiegels um das Dreifache bezogen auf eine Basislinie, ein Anstieg

des Serumkreatininspiegels um 353 $\mu\text{mol/l}$, die Initiation eines Nierenersatzverfahrens, eine Urinausscheidung $< 0,3 \text{ ml/kg/h}$ über mehr als 24 Stunden oder Anurie für mehr als zwölf Stunden vor. (AD-HOC WORKING GROUP OF et al., 2012)

Je nach Ursache für den Anstieg von Kreatinin und Harnstoff wird von einer prärenalen, renalen oder postrenalen Azotämie gesprochen. Während bei der prärenalen Azotämie ein nicht adäquat zirkulierendes Blutvolumen, zum Beispiel aufgrund von Dehydratation verursacht durch eine Blutung, Erbrechen, Durchfall etc., zum Anstieg von Kreatinin und Harnstoff führt, ist bei der postrenalen Azotämie eine Verlegung der harnableitenden Organe der Auslöser. (THADHANI et al., 1996) Bei der renalen Azotämie ist eine Schädigung des Nierenparenchyms Auslöser für die nicht angemessene Ausscheidung von Harnstoff und Kreatinin. Je nach Ursache und Ausmaß der Schädigung ist die ANS potentiell reversibel, kann aber bei schwerem Verlauf in einer terminalen Niereninsuffizienz münden (AD-HOC WORKING GROUP OF et al., 2012). Die Mortalitätsrate von Patienten mit ANS beträgt circa 50%. (CHANG et al., 2008; FRIEDERICKSEN et al., 2009)

1.1.1. Ursachen für renale Azotämie und intrinsisch renale Erkrankungen

Je nach Lokalisation der intrinsischen Nierenschädigung werden verschiedene Gruppen unterschieden: Die größte Gruppe bildet die durch Ischämie oder Nephrotoxine ausgelöste Schädigung der Tubuli, welche bei anhaltendem Insult zur akuten tubulären Nekrose (ATN) führen kann, welche für circa 90 % der akuten spezifisch renalen Azotämie verantwortlich ist. Tubulointerstitielle Erkrankungen werden durch Ischämie, Toxine, schwere Infektionen oder infiltrative Geschehen wie z.B. das Lymphom verursacht. Zu den Erkrankungen der Mikrovaskulatur und der Glomerula gehören unter anderem die Glomerulonephritis, die thrombotische Mikroangiopathie oder das seltene Hyperviskositätssyndrom. Erkrankungen der großen Nierengefäße treten nur sporadisch auf und werden zum Beispiel durch einen Thrombembolus oder eine Vaskulitis verursacht. (BRADY und SINGER, 1995) Gekennzeichnet ist die ANS durch ein Absinken der GFR, einer Anhäufung stickstoffhaltiger Verbindungen und der Unfähigkeit der Nieren das Elektrolytgleichgewicht, den Säure-Basen-

Haushalt und Wasserhaushalt aufrecht zu erhalten (BRADY und SINGER, 1995; ESSON und SCHRIER, 2002).

Akute tubuläre Schäden sind die Hauptursache für akutes Nierenversagen in der Humanmedizin (BRADY und SINGER, 1995). Die Auslöser sind wie oben bereits erwähnt in erster Linie ischämische Insulte und Nephrotoxine. Diese führen zu einer Schädigung der Zellen des Nierenparenchyms, vor allem der Tubulusepithelzellen. Auch nach Behebung des schädigenden Einflusses kommt es nicht zu einer sofortigen Wiederherstellung der Nierenfunktion. Bei einer ausgeprägten Schädigung kann es zur sogenannten ATN bis hin zur Nekrose der Nierenrinde und einer irreversiblen Störung der Nierenfunktion kommen (CHUGH et al., 1994).

1.1.1.1. Akute tubuläre Schäden und Nekrose

Ischämische Einflüsse auf die Nieren sind eine der Hauptursachen für ANS. Dabei können diese renal oder extrarenal sein. Gemeinsam ist allen Ursachen, dass es zu einem Absinken des renalen Blutflusses (RBF) kommt. Bei einem verminderten Blutvolumen bedingt durch einen gastrointestinalen, renalen oder dermalen Verlust, eine Blutung oder durch einen Schock kommt es zu einem Blutdruckabfall, welcher wiederum zu einem generalisierten oder lokalen Abfall des RBF führt. Erkrankungen der großen Nierengefäße wie Thromben, Emboli oder Stenosen können den RBF beeinträchtigen, ebenso wie Schädigungen der kleinen Nierengefäße z.B. durch eine Vaskulitis, das hämolytisch-urämische Syndrom, die maligne Hypertension, eine Sklerodermie, eine Sichelzellanämie, Präeklampsie, Transplantatabstoßung oder auch Hyperkalzämie. Sepsis (BRIVET et al., 1996), ein vermindertes tatsächliches intravaskuläres Volumen ausgelöst durch kongestives Herzversagen, Zirrhose, Nephrose oder eine Peritonitis sowie das hepatorenale Syndrom sind weitere Ursachen für einen reduzierten RBF. Auch Medikamente wie Cyclosporine, Tacrolimus, Angiotensin-Converting-Enzym Inhibitoren, nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAID), Kontrastmittel und Amphotericin B beeinflussen den RBF. Neben den ischämischen Insulten gehören Toxine wie Aminoglykosidantibiotika und Kontrastmittel zu den häufigsten Ursachen für ANS, aber auch Hämpigmente, Cisplatin, Leichtkettenproteine bei einem Myelom und andere Medikamente können Auslöser für eine ANS sein. (BRADY und SINGER, 1995; THADHANI et al., 1996)

1.1.1.1.1. Hypotension und Ischämie als Auslöser für akute Nierenschädigungen

Der Hypotension mit folgender Minderdurchblutung der Nieren können verschiedene Ursachen zugrunde liegen. Eine durch Hypotension ausgelöste ANS wird häufig prärenal durch ein vermindertes zirkulierendes Blutvolumen ausgelöst, welches sekundär durch eine Verminderung des RBF zu einem renalen Schaden mit Obstruktion der Tubuli und Austritt von Filtrat aus dem Tubulussystem führt. So kommt es in der Humanmedizin durch große Traumata, Blutungen, Herzstillstand mit Wiederbelebung oder eine Unterbrechung des RBF bei Operationen immer wieder zu ischämischen ANS. (WILKES und MAILLOUX, 1986) LIU und Mitarbeiter (2009) fanden heraus, dass bei Stationspatienten ein Absinken des systolischen Blutdrucks im Vergleich zu vorher gemessenen Werten als signifikantes Anzeichen für die Entwicklung eines ANS zu werten ist. (LIU et al., 2009) Vor allem im Bereich der Herzchirurgie ist die postoperative ANS eine gefürchtete Komplikation. MORI und Mitarbeiter (2013) leiteten eine Studie an Patienten, welche eine Operation am Aortenbogen erhielten, und fanden heraus, dass 73 % eine ANS entwickelten. (MORI et al., 2013) ARONSON und Mitarbeiter (2013) stellten fest, dass eine Erniedrigung des systolischen Blutdrucks bei Aortokoronaren-Bypass-Operationen mit postoperativen ANS einhergeht. (ARONSON et al., 2013) OLSEN und Mitarbeiter (1990) fanden bei Patienten, welche eine Operation aufgrund eines abdominalen Aortenaneurysmas erhielten, heraus, dass bis zu 12 % eine ANS entwickeln. In 88 % der Fälle mit rupturiertem Aneurysma und ANS, kam es vor der Operation zu einer Hypotension und einem Schockgeschehen. Innerhalb von 30 Tage nach der Operation starben 58 % der Patienten, welche eine ANS entwickelt hatten. (OLSEN et al., 1990) TALLGREN und Mitarbeiter (2007) untersuchten den Einfluss von Hypotension bei Patienten, welche eine abdominale Aortenoperation erhielten, und wiesen einen Zusammenhang zwischen akuter renaler Dysfunktion und Hypotension mit einem MAP < 60 mmHg über 15 Minuten nach. (TALLGREN et al., 2007)

1.1.1.1.2. Anästhesie und akute Nierenschädigungen

Bei der Anästhesie sind zwei Wege der Schädigung der Niere möglich. Zum einen sind es kardiovaskuläre Veränderungen, welche wiederum die Durchblutung der Niere beeinflussen und zu ischämischen Insulten führen. Zum anderen ist es der toxische Effekt der Anästhetika auf die Nieren selbst, welcher zu ANS führen kann. Zu Beginn sind es oft nur kleine Veränderungen in der Tubulusfunktion mit einer verminderten Konzentrationsfähigkeit des Urins oder kleinen Elektrolytabweichungen. Bei nicht angemessenem Entgegensteuern können diese kleinen Veränderungen jedoch zu einer stark beeinträchtigenden ANS führen. (FERGUSON et al., 2008). Um die Gefahr einer ANS zu minimieren ist es wichtig, schädigende Einflüsse auf ein Minimum zu reduzieren und mögliche synergistisch schädigende Insulte auszuschalten. So sollte der Hydrationsstatus eines Patienten bereits vor einer Anästhesie optimiert werden, um toxische Effekte von Medikamenten auf die Nieren zu minimieren. (BREZIS und ROSEN, 1995) Anästhetika vermindern häufig die GFR. Entweder geschieht dies durch einen verminderten RBF oder durch eine Veränderung der kardiovaskulären oder neuroendokrinen Aktivität. (BIDWAI et al., 1975) Jedoch gibt es auch eine Studie an Hunden von BOSTRÖM und Mitarbeiter (2003), welche keine Erniedrigung des relativen RBF und der GFR trotz einer Erniedrigung des MAP während Anästhesien nachwies. So variierte die GFR bei Hunden, welche Azepromazin als Prämedikation erhalten hatten, zwischen 3,6 und 4,2 ml/min/kg am Tag vor der Anästhesie, während der Anästhesie und am Tag danach mit einem MAP von 66 ± 8 mmHg während der Anästhesie. Im Gegensatz dazu hatten Hunde, welche eine Salzlösung als Prämedikation erhalten hatten einen MAP von 87 ± 13 mmHg während der Anästhesie, jedoch waren keine signifikanten Unterschiede beim relativen RBF und der GFR nachweisbar. (BOSTROM et al., 2003) Interessanterweise hatten KIRCHHEIM und Mitarbeiter bereits 1987 bei Hunden nachgewiesen, dass die unteren Grenzen für die renale Autoregulation für den RBF und die GFR unterschiedlich sind. So konnte die GFR bis zu einem renalen arteriellen Druck von $80,5 \pm 3,5$ mmHg, der RBF bis $65,6 \pm 1,3$ mmHg aufrecht erhalten werden. (KIRCHHEIM et al., 1987b) Zudem kann es durch Anästhetika zu einer Erhöhung des unteren Limits der renalen Autoregulation kommen.

(KIRCHHEIM et al., 1987a) PAGEL und Mitarbeiter (1991) wiesen eine Erniedrigung des MAP durch Inhalationsanästhetika nach. So kommt es insbesondere durch Isofluran und Enfluran zu einer signifikanten Erniedrigung des MAP. (PAGEL et al., 1991) Propofol führt zu einem Abfall des systemischen Blutdrucks durch eine Verminderung der myokardialen Aktivität sowie einer peripheren Vasodilatation. (SELLGREN et al., 1994) Auch für Alfaxalon wurde ein Abfall des MAP beschrieben. (MUIR et al., 2009) Generell kommt es in der Humanmedizin bei fast allen Anästhesien zu einem Blutdruckabfall. Oft ist er nur mild und selbstlimitierend. Doch bei starken Hypotensionen oder bei Hypotensionen bei Patienten mit Vorerkrankungen können der Blutdruckabfall und die daraus resultierenden Komplikationen beträchtlich bis hin zu lebensbedrohlich sein. Irreversible ischämische Schäden sind neurologische Defizite, Kardiomyopathien, Beeinträchtigungen von Ungeborenen bei schwangeren Patienten und Nierenschädigungen. (MORRIS et al., 2005; KASHEFI et al., 2014)

1.1.1.1.3. Mechanismen der Schädigung durch Ischämie

Die morphologischen Charakteristika nach einem ischämischen Insult umfassen einen Verlust der Bürstensaummembran der proximalen Tubuli, eine Bläschenbildung der apikalen Membranen, ein Anschwellen der Zellen und Mitochondrien, Pyknose der Zellkerne und Apoptose. Bei anhaltend schädigendem Einfluss kommt es zu einem Ablösen der Zellen von der Basalmembran was zu einer intraluminalen Obstruktion der Tubuli durch Aggregation von Zellen und Proteinen führt. (BONVENTRE, 1993; ZUK et al., 1998)

Nach SHERIDAN und BONVENTRE (2000) ist es die Reduzierung des regionalen Blutflusses im äußeren Markbereich im Gegensatz zur anhaltenden präglomerulären Vasokonstriktion (VETTERLEIN et al., 1986; VETTERLEIN et al., 1994), welche im Zentrum der gestörten GFR bei ANS steht und welcher die größte Bedeutung zuzuschreiben ist. (SHERIDAN und BONVENTRE, 2000) Endotheliale Schäden führen zu einer verstärkten Interaktion zwischen dem Endothel und Leukozyten was zu einem gestörten Blutfluss führt. (BONVENTRE, 1993) So beeinflussen Endothelin und Stickstoffmonoxid (NO)

den Tonus der Gefäßmuskulatur und die Leukozytenadhäsion und sind an der Entstehung von Reperfusionsschäden nach einer Ischämie mitverantwortlich. Es konnte gezeigt werden, dass es nach einer Minderdurchblutung zum systemischen Anstieg der Konzentrationen von Endothelin kommt. RUSCHITZKA und Mitarbeiter (1999) wiesen in einer Studie an Ratten nach, dass es nach einer Ischämie der Niere zu erhöhten Konzentrationen von Endothelin-1 im Plasma und Gewebe, sowie einer gesteigerten Expression der Endothelin-A- und B-Rezeptoren kommt und dies mit einer endothelialen Dysfunktion und Vasokonstriktion der Nierenarterie und Aorta einhergeht. (RUSCHITZKA et al., 1999) In mehreren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass Anti-Endothelin-Antikörper oder Endothelin-Rezeptorantagonisten zu einem Schutz vor Ischämie-Reperfusionsschäden führen. (SHIBOUTA et al., 1990) MATSUMURA und Mitarbeiter (2000) zeigten in einer Studie an Ratten, dass die Verabreichung eines Inhibitors des Endothelin-Converting-Enzyms eine deutliche dosisabhängige Abschwächung der Ischämie-Reperfusionsschäden wie tubuläre Nekrose, Bildung proteinartiger Zylinder und medulläre Kongestion zur Folge hatte. (MATSUMURA et al., 2000) FORBES und Mitarbeiter (2001) wiesen in einer Studie an Ratten nach, dass die Verabreichung eines Endothelin-A-Rezeptor-Antagonisten 24 Stunden nach der Ischämie, positive langfristige Effekte hat im Vergleich zur gleichzeitigen Blockade des Endothelin-A- als auch des Endothelin-B-Rezeptors. FUJII und Mitarbeiter (2005) bestätigten ebenso an Ratten, dass eine medikamentöse Verhinderung der Endothelin-1-Überproduktion nach einer Ischämie zu einer verbesserten renalen Funktion im Vergleich zur Kontrollgruppe führt. Histopathologisch konnte auch ein deutlicher Unterschied im renalen Schaden aufgezeigt werden, welcher in der Kontrollgruppe aus einer deutlichen tubulären Nekrose, proteinartigen Zylindern und einer medullären Kongestion bestand. (FUJII et al., 2005) ABASSI und Mitarbeiter bewiesen schon 1992 in einer Studie an Ratten, dass die in der Niere vorhandene neutrale Endopeptidase (NEP) eine entscheidende Rolle im Abbau des Endothelin spielt. Bei einer Inhibition der NEP kommt es zu einem massiven Anstieg von Endothelin im Urin. (ABASSI et al., 1992) Die durch die Ischämie ausgelöste Zellschädigung in der Niere führt zu einer verminderten NEP-mRNA Expression, und damit zu einem verminderten Abbau von Endothelin-1. (NAMBI et al., 1999)

Eine weitere wichtige Rolle spielen NO und seine Metaboliten beim vaskulären

Tonus, bei der neutrophilen und epithelialen Zelladhäsion sowie als Toxin auf Zellen. NO wirkt vasodilatatorisch (BREDT, 1999) und senkt die Bildung von Endothelin (KOUREMBANAS et al., 1993) und ebenso dessen Aktivität (RICHARD et al., 1995). Ob NO sich positiv oder negativ auswirkt hängt sehr stark mit dessen Bildung durch die Stickstoffmonoxidsynthase (NOS) zusammen. Bei der induzierbaren NOS (iNOS = NOS 2) überwiegen die negativen Effekte (LING et al., 1999), bei der endothelialen Isoform (eNOS = NOS 3) die positiven. Das hat zur Folge, dass bei einer nicht selektiven Hemmung der NOS die negativen Folgen durch die Hemmung der eNOS die eigentlich positiven Effekte einer Hemmung der iNOS überwiegen. (NOIRI et al., 1996) Toxische Effekte spricht man dem NO-Metaboliten Peroxynitrit zu, welches zu einer Hemmung der DNA-Bildung führt (PETERS et al., 1999). In einer Studie an Opposumzellen konnte gezeigt werden, dass NO zu einer Minderung der ATP-Konzentration führt und es zu einer gesteigerten parazellulären Permeabilität kommt. (LIANG und KNOX, 1999) Weiter geht man davon aus, dass NO oder Peroxynitrit die Ablösung von Epithelzellen verstärken was zu einer Obstruktion des Tubuluslumen führt (WANGSIRIPAIAN et al., 1999), welche einen weiteren wichtigen Punkt in der Pathophysiologie der ANS darstellt. (ZUK et al., 1998)

Zusätzlich kommt es beim Ischämie-Reperfusionssyndrom zu einer Entzündungsreaktion, welche durch Leukozyteninfiltration, Ödeme und Verschlechterung des mikrovaskulären Blutflusses gekennzeichnet ist. (EKSIOGLU-DEMIRALP et al., 2010) Die Aktivität der Myeloperoxidase (EKSIOGLU-DEMIRALP et al., 2010) steigt, ein Indikator für die Infiltration von Neutrophilen, und weiter wird Leukozyten eine Potenzierung des renalen Schadens zugesprochen, indem es zur Bildung von reaktiven oxygenen Spezies (ROS) kommt. (GUZ et al., 2007; EKSIOGLU-DEMIRALP et al., 2010) Die Adhäsion von Leukozyten wird durch eine gesteigerte Expression von Leukozyten-Endothelial-Adhäsions-Molekülen wie Integrinen, Selektinen und zur Ig-Superfamilie gehörenden interstitiellen (ICAM-1) und vaskulären Zelladhäsionsmolekülen (VCAM) vermittelt. (DAVENPECK et al., 1994; KELLY et al., 1994; KELLY et al., 1996; MOLITORIS und MARRS, 1999; ORTIZ et al., 2003; AKHTAR et al., 2010)

NO hingegen hemmt die durch den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) induzierte Infiltration und Adhäsion von Neutrophilen an endotheliale Zellen (LINAS et al.,

1997). Ursprünglich wurde angenommen, dass TNF seinen Ursprung in eingewanderten peripheren Monozyten hat. Mittlerweile geht man davon aus, dass glomeruläre Mesangiumzellen in der Lage sind TNF zu bilden, ausgelöst z.B. durch Lipopolysaccharide, Interleukine-1 oder TNF selbst (GIROIR et al., 1992; FOUQUERAY et al., 1993). Durch Oxidantien, die während der Reperfusion von ischämischem Gewebe frei werden, kommt es zur Stimulation von Transkriptionsfaktoren, welche die Expression von TNF steigern. (DONNAHOO et al., 1999) Integrine interagieren mit Immunglobulin-ähnlichen Adhäsionsmolekülen. Nach einer Ischämie kommt es durch Zytokine zur verstärkten Ausbildung von interstitiellen (ICAM-1) und vaskulären Zelladhäsionsmolekülen (VCAM) durch die Endothelzellen und somit zu einer Verstärkung der Entzündungsreaktion. (KELLY et al., 1994; KELLY et al., 1996; ORTIZ et al., 2003; AKHTAR et al., 2010)

1.1.1.1.4. Mechanismen der Schädigung durch nephrotoxische Substanzen

Beim intrinsischen akuten Nierenversagen sind circa 85 % durch eine ATN verursacht, wobei 35 % durch Toxine verursacht werden, 50 % durch Ischämie. (THADHANI et al., 1996) Nephrotoxine und Ischämie haben viele pathophysiologische Eigenschaften gemein. (BREZIS und ROSEN, 1995) Zu den nephrotoxischen Substanzen gehören einige Antibiotika, antivirale Substanzen, Analgetika, insbesondere NSAID, Antihypertensiva, Fettsenker, Immunsuppressiva, zytostatische Chemotherapeutika, Naturheilmittel, sowie einige Schwermetalle. Nach Ort und Art der Nierenschädigung kann man zwischen vaskulär, tubulo-toxisch, tubulo-obstruktiv und immunologisch interstitiell unterscheiden. Die Glomerula sind eher selten betroffen. (CZOCK et al., 2005) Der Grund für die Anfälligkeit der Niere für Schädigungen durch Toxine liegt an ihrer Aufgabe die GFR und den renalen Metabolismus aufrecht zu erhalten, weshalb die Nieren einen vergleichsmäßig hohen Blutfluss mit 20 - 25 % des Herzauswurfs aufweisen. Das hat zur Folge, dass renale Gefäße, Glomerula, Tubuli und das Interstitium einem großen Volumen an Bluttoxinen ausgesetzt sind. Das Tubulusepithel ist besonders belastet, da es aufgrund seiner Aufgabe gelöste Stoffe und Wasser zu reabsorbieren höhere Konzentrationen an Toxinen im Tubuluslumen als in der restlichen Zirkulation schafft, und es durch die

Transportprozesse zu hohen intrazellulären Konzentrationen an Toxinen und ihren Metaboliten kommt. Folglich besteht zudem ein hoher Bedarf an Energie, um diese Aufgaben gewährleisten zu können. (FERGUSON et al., 2008)

Zur tubulo-toxischen Gruppe gehören unter anderem Aminoglykoside. MATZKE und Mitarbeiter (1983) untersuchten die Nephrotoxizität von Gentamicin und Tobramycin. Bei 8 – 18,4 % der behandelten Patienten kam es zu einer Schädigung der Niere. Bei erhöhten Serumkonzentrationen der Aminoglykoside konnte bei 34 % der Patienten eine Nephrotoxizität nachgewiesen werden. (MATZKE et al., 1983) Die meisten klinisch genutzten Aminoglykoside sind bei einem physiologischen pH-Wert Kationen mit einem Molekulargewicht von circa 500 D. (BENNETT, 1989) Die Plasmaproteinbindung zwischen den einzelnen Vertretern variiert. Circa 25 – 30 % des Gentamicins sind an Plasmaproteine gebunden, im Gegensatz zu Kanamycin, welches nicht an Plasmaproteine bindet. (GYSELYNCK et al., 1971) Die Ausscheidung erfolgt hauptsächlich über die Niere und ist somit an die GFR gebunden. (BENNETT, 1989) HOUGHTON und Mitarbeiter (1976) wiesen an Ratten die Schädigung des proximalen Tubulus durch Gentamicinsulfat nach. (HOUGHTON et al., 1976) Aminoglykoside binden an Phospholipide der Plasmamembranen und Zellorganellen, inaktivieren Phospholipasen, führen zur Bildung von ROS und senken die Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase (Na-K-ATPase) und ändern das Milieu des Zytoplasmas. Dadurch und durch einen direkten Einfluss auf die Mitochondrienmembran kommt es zu Störungen in den Mitochondrien. Gentamicin nimmt Einfluss auf die Magnesiumbindung an der inneren Mitochondrienmembran und steigert so die Permeabilität für monovalente Kationen. Es kommt zu einem Anschwellen der Mitochondrien und Störungen in der Atmungskette. (WEINBERG et al., 1980; WEINBERG und HUMES, 1980; WALKER und SHAH, 1987; HUMES, 1988; BENNETT, 1989; WALKER et al., 1999)

Eine weitere wichtige Gruppe nephrotoxischer Substanzen, die auf vaskulärer, tubulärer und interstitieller Ebene ihre Effekte entfalten, sind NSAIDs. (CZOCK et al., 2005) Durch ihre Hemmung der Cyclooxygenasen (COX) und damit u.a. der Prostaglandinsynthese erklären sich einerseits ihre antiinflammatorischen Eigenschaften, aber auch ihre nachteiligen Wirkungen auf den Gastrointestinaltrakt und die Nieren. (KNIGHTS et al., 2005) Sowohl COX-1, als

auch COX-2 wird in der Niere des Menschen exprimiert (KOMHOFF et al., 1997; NANTEL et al., 1999) und ihre Hemmung wirkt sich nachteilig auf die Nieren aus. Entgegen früheren Annahmen wird auch COX-2 konstitutiv in der Niere exprimiert und ist an der Aufrechterhaltung der renalen Homöostase gelöster Substanzen sowie der renalen Perfusion beteiligt. (BRATER, 1999) Durch verschiedene Stimuli wie z.B. Zytokine, Interleukin (IL)-1 oder Endothelin, kann die Expression der COX-2 aufreguliert werden. (CROFFORD, 1997; KNIGHTS et al., 2005) Bei einem verminderten RBF kommt es zu einer durch Prostaglandine vermittelten Vasodilatation der renalen Gefäße, zu einer verstärkten Natriumausscheidung und zu einer gesteigerten Reninsekretion. Demnach kommt es zu einer Beeinträchtigung der renalen Funktion durch die Hemmung der Prostaglandinsynthese, aber auch durch die Verschiebung der Metabolisierung der Arachidonsäure durch die Lipoxygenase, Cytochrom P450 und Uridin-5'-diphosphat-glucuronosyltransferase. (KNIGHTS et al., 2005) Weiter ist eine durch NSAID ausgelöste akute papilläre Nekrose sowie ein nephrotisches Syndrom mit akuter interstitieller Nephritis beschrieben. (HARIRFOROOSH et al., 2013)

Auch Cisplatin ist tubulo-toxisch (CZOCK et al., 2005) und führt bei 20 – 30 % der behandelten Patienten zu einer Beeinträchtigung der Nierenfunktion. (HARTMANN et al., 1999; YAO et al., 2007) Cisplatin wird sowohl im Glomerulum filtriert als auch im Tubulus sezerniert. In den proximalen Tubuluszellen ist die Cisplatinkonzentration fünfmal höher verglichen mit der im Serum. (KUHLMANN et al., 1997) Die Aufnahme in die Tubuluszellen erfolgt peritubulär durch passive Diffusion und durch aktive Transportmechanismen. (GATELY und HOWELL, 1993; ISHIDA et al., 2002; PABLA et al., 2009) Im Zytosol, in den Mitochondrien, Nuklei und Mikrosomen kommt es zu den höchsten Konzentrationen von Cisplatin. Eine niedrige intrazelluläre Chloridkonzentration führt zudem zum Austausch der Chloridbindungsstellen durch Hydroxylgruppen und damit zur Bildung toxischer Platinderivate. Histologisch führt Cisplatin zu einer dosisabhängigen tubulären Apoptose und Nekrose (LIEBERTHAL et al., 1996; PABLA und DONG, 2008; MILLER et al., 2010), einem Mikrovilliverlust, Veränderungen in der Anzahl und Größe der Lysosomen und Vakuolisierung der Mitochondrien. Funktionell kommt es zu einer Hemmung der Proteinsynthese, zum Absinken der Glutathionkonzentration,

zu einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration (KAWAI et al., 2006) und zur Bildung von ROS (KAWAI et al., 2006), was einen Schaden der Mitochondrien (ZSENGELLER et al., 2012), eine Hemmung der Transportproteinsynthese für Membranen und Lipidperoxidation zur Folge hat. (KUHLMANN et al., 1997) Durch die Bildung von Peroxynitrit kommt es zu veränderten Proteinstrukturen und Proteinfunktionen und ebenso zur Lipidperoxidation und zum DNA-Bruch. (CHIRINO et al., 2004; YAO et al., 2007) Weiter spielt die Desoxyribonuklease I eine wichtige Rolle in der DNA-Fragmentation durch Cisplatin. In Zelllinien von Deoxyribonuklease I-Knockout-Mäusen konnte gezeigt werden, dass diese gegen die Cisplatinschädigung resistent und die Knockout-Mäuse nach einer Cisplatininjektion deutlich gegen die Nephrotoxizität geschützt waren. (BASNAKIAN et al., 2005) Durch Entzündungsreaktionen und die verstärkte Bildung von TNF- α kommt es zur Apoptose, ROS-Bildung, und Aktivierung von Zytokinen und Chemokinen. (MILLER et al., 2010) Um die betroffenen Tubuli entsteht eine Fibrose mit Infiltration von Makrophagen und Lymphozyten. (YAMATE et al., 2002; YAO et al., 2007) Durch die Veränderungen an den Tubuli verändert sich die renale Hämodynamik. Innerhalb von drei Tagen kommt es zu einer gestörten Reabsorption und einem erhöhten vaskulären Widerstand. (DAUGAARD und ABILDGAARD, 1989) In einem Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass es durch Cisplatin zu einer verringerten Expression der Aquaporine 1 und 2, Na-K-ATPase, Na-H-Austauscher (Typ III) und Na-K-Cl-Cotransporter kommt. (LAJER et al., 2005) Winston und Mitarbeiter (1985) wiesen an Ratten, welche Cisplatin erhielten, einen verminderten RBF und eine verringerte GFR nach. (WINSTON und SAFIRSTEIN, 1985) In einer Studie an Hunden konnte gezeigt werden, dass 31 % der Hunde nach einer Chemotherapie mit Cisplatin eine Azotämie entwickelten. (AUTIO et al., 2007) In der Humanmedizin wurde gezeigt, dass es je nach Schweregrad der Schädigung innerhalb von 1 – 2 Wochen zu einer Azotämie kommt, sich die Nieren aber meist innerhalb von vier Wochen erholen. In manchen Fällen zieht sich die Erholung jedoch über mehrere Monate oder es kommt zu einem irreversiblen Schaden durch hohe Dosen und mehrere Behandlungen (MADIAS und HARRINGTON, 1978; DAUGAARD und ABILDGAARD, 1989) Ein fortgeschrittenes Alter der Patienten, Bestrahlung der Nieren und Alkoholkonsum steigern das toxische Potential von Cisplatin. (ANAND und BASHEY, 1993)

Weitere tubulo-toxische Substanzen sind Cyclosporin A, Amphotericin B, Foscarnet, jodhaltige Röntgenkontrastmittel und Lithium. (CZOCK et al., 2005)

Auch die als Chemotherapeutika verwendeten Anthracycline sind nephrotoxisch. In einer Studie an Ratten konnte gezeigt werden, dass Doxorubicin in erster Linie die Glomerula schädigt: VAN HOESEL und Mitarbeiter (1986) wiesen nach, dass es im frühen Stadium der Schädigung zu einer Verdickung der epithelialen Schicht des parietalen Blattes der Bowmankapsel kommt. Durch Adhäsionen zwischen dem parietalen und viszeralen Blatt wurde die Bildung von Bläschen begünstigt. Bei weiterer Verabreichung von Doxorubicin entwickelte sich eine progressive Zerstörung bis hin zum Schwund der glomerulären Struktur. Es konnten keine Zellinfiltrate, keine Prädilektionsstelle innerhalb der Nierenrinde und keine Thromben nachgewiesen werden. Sehr bald nach der Gabe von Doxorubicin traten Proteinzyylinder sowie vergrößerte Granula in den proximalen Tubuluszellen auf. Mit dem Verschwinden der Bürstensaummembran waren die Granula nicht länger darstellbar. Ob eine Atrophie der Tubuli in der Entstehung war, konnte nicht mit Sicherheit gesagt werden, da die Tiere für die histologische Untersuchung am 49. Tag obduziert wurden. Es wurde eine Dosis von 1 mg/kg Doxorubicin mehrmals in vier verschiedenen Behandlungsschemata verabreicht und eine kumulative Dosis bis zu 11 mg/kg innerhalb der 49 Tage erreicht. Bei den weiblichen Tieren konnte ab dem 35. Tag ein signifikanter Anstieg des Serumkreatinins, bei den männlichen Tieren am 14. Tag ein nicht signifikanter Anstieg nachgewiesen werden, war aber aufgrund der Trübheit des Serums ab Tag 28 nicht weiter messbar. Es kam zur Entwicklung einer Albuminurie und Hypalbuminämie, wobei die männlichen Tiere deutlich schneller und stärker betroffen waren. (VAN HOESEL et al., 1986) STORM und Mitarbeiter (1989) wiesen in einem Rattenmodell nach, dass in Liposomen verkapseltes Doxorubicin zu einer Reduktion der Nierenschädigung führt und der Bolusinjektion von Doxorubicin und der Doxorubicininfusion überlegen war, zudem entwickelte sich die Albuminurie langsamer. (STORM et al., 1989) Auch bei der Katze sind nach hohen kumulativen Dosen mit 300 mg/m² Körperoberfläche (BSA) ANS beschrieben. Es kommt histologisch zu einer Verdickung des Mesangiums, sowie vereinzelt zur Nekrose von Tubuluszellen, aber auch zu deren Regeneration (O'KEEFE et al., 1993; KENT, 2013) POIRIER und Mitarbeiter (2002) konnten an Katzen eine Nephrotoxizität von Doxorubicin und von in Liposomen

verkapseltem intravenös verabreichtem Doxorubicin (fünfmal alle drei Wochen) nachweisen. In die Studie wurden 108 Katzen eingeschlossen, wovon 14 Katzen (13 %) eine Azotämie und Isosthenurie entwickelten. Die ursprüngliche Dosis des in Liposomen verkapselten Doxorubicins musste von 1,5 mg/kg auf 1 mg/kg reduziert werden, da eine unerwartete Nephrotoxikose bei 23 % der 35 Katzen, welche das in Liposomen verkapselte Doxorubicin in einer Dosierung von 1,5 mg/kg erhalten hatten, auftrat. In der Gruppe mit 18 Katzen, welche in Liposomen verkapseltes Doxorubicin mit einer Dosierung von 1 mg/kg erhalten hatten, entwickelte eine Katze (5 %) eine Azotämie. In der Doxorubicin-Gruppe entwickelten 9 % (5/55) eine Azotämie. Der mediane Wert von Beginn der Therapie bis zur Entwicklung einer Azotämie betrug acht Monate. Eine komplette postmortale Untersuchung wurde bei 17 Tieren durchgeführt. Neun Katzen wiesen eine chronische nicht-eitrige interstitielle Nephritis auf. Bei vier Katzen, welche postmortal untersucht wurden, konnte eine tubuläre Nephrose bzw. Nekrose aufgezeigt werden. Bei allen Katzen, welche histologisch veränderte Nieren aufwiesen war in Liposomen verkapseltes Doxorubicin in einer Dosierung von 1,5 mg/kg verabreicht worden. (POIRIER et al., 2002) In der Humanmedizin konnte in einer Studie gezeigt werden, dass Daunorubicin, Epirubicin und Idarubicin, jedoch nicht Doxorubicin, zu einem signifikanten Anstieg der N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) Aktivität führte, jedoch nicht zu einer signifikanten Veränderung der Serumkreatininwerte. (BARDI et al., 2007) Nach einem Fallbericht von LEWIN und Mitarbeiter (2005) entwickelten drei Patienten, welche Gemcitabin und in Liposomen verkapseltes Doxorubicin aufgrund eines Eierstockskarzinoms erhielten, ein Nierenversagen im Rahmen eines hämolytischen urämischen Syndroms. (LEWIN et al., 2005)

1.2. Akute Nierenschädigung und Anästhesien bei Katzen

Auch in der Veterinärmedizin werden ANS als ein Zustand der Nieren beschrieben, in welchem diese nicht mehr in der Lage sind ihre exkretorischen, metabolischen und endokrinen Aufgaben angemessen auszuführen. Dies hat zur Folge, dass die Serumspiegel von Harnstoff, Kreatinin und Phosphat ansteigen und es zu einer plötzlichen Zu- oder Abnahme des Harnvolumens kommt. Dieser Zustand ist potentiell reversibel, jedoch liegt die Mortalitätsrate bei Katzen bei

circa 56 – 62% (BEHREND et al., 1996; VADEN et al., 1997) bzw. 47% (WORWAG und LANGSTON, 2008). Die International Renal Interest Society (IRIS) hat 2013 Empfehlungen für das Staging von ANS bei Hunden und Katzen herausgebracht. Demnach ist die ANS Grad 1 gekennzeichnet durch Serumkreatininwerte $< 140 \mu\text{mol/l}$ und beinhaltet somit die nicht azotämischen Tiere. Es liegen Hinweise aus der Anamnese, der Klinik, dem Labor oder der bildgebenden Diagnostik vor, welche für eine ANS sprechen. Zudem kann es zu einem progressiven Anstieg des Serumkreatinins innerhalb von 48 Stunden um $26,4 \mu\text{mol}$ oder mehr kommen. Ein weiteres Kriterium ist eine Oligurie oder Anurie für mehr als sechs Stunden. Grad 2 beschreibt milde ANS mit Serumkreatininwerten zwischen 141 und $220 \mu\text{mol/l}$, einer dokumentierten ANS mit stagnierender oder auch progressiver Azotämie mit einem Anstieg über $26,4 \mu\text{mol/l}$ über 48 Stunden, sowie einer Oligurie oder Anurie über mehr als sechs Stunden. Bei Grad 3-5 liegt eine entsprechend moderate bis schwere ANS vor mit entsprechendem Schweregrad an Azotämie und renalem Funktionsverlust. So sind bei Grad 3 die Serumkreatininwerte zwischen 221 und $439 \mu\text{mol/l}$, bei Grad 4 zwischen 440 und $880 \mu\text{mol/l}$ und bei Grad 5 über $880 \mu\text{mol/l}$. Die Ursachen für ANS können u.a. schädigende Substanzen, hämodynamische Veränderungen oder auch Infektionen sein. WORWAG und Mitarbeiter (2008) befassten sich in einer retrospektiven Studie mit ANS bei 32 Katzen. Bei 56% der Katzen war eine Nephrotoxikose die Ursache für das ANS. Neun Katzen entwickelten nach einer Lilienaufnahme ANS, vier nach der Aufnahme von NSAID, zwei nach einer Ethylenglykol- und jeweils eine nach einer Teer-, Dünger- und Tulpenvergiftung. Die restlichen 14 Katzen (44%) hatten verschiedene andere Ursachen. Jeweils zwei Katzen entwickelten nach einer Allgemeinanästhesie und nach einer hypotensiven-hypovolämischen Episode ANS. Bei den übrigen zehn Katzen lag der Verdacht auf eine Pyelonephritis nahe oder die Ursache war unbekannt. Siebzehn Katzen (53%) überlebten die Episode der ANS, 15 starben (47%) oder wurden euthanasiert (WORWAG und LANGSTON, 2008).

Viele weitere Studien und Fallberichte befassen sich mit ANS durch die Aufnahme inadäquater Substanzen. Beispiele für nephrotoxische Substanzen sind auch hier die Aufnahme von Lilien (LANGSTON, 2002; HADLEY et al., 2003; BENNETT und REINEKE, 2013), Ethylenglykol (DIAL et al., 1994), Melamin (PUSCHNER et al., 2007; DOBSON et al., 2008), Amanitin (TOKARZ et al.,

2012), Antibiotika wie Fosfomycin (FUKATA et al., 2008) und Paromomycin (GOOKIN et al., 1999), sowie NSAID (GRAUER, 1996; WHELTON, 1999; HARIRFOROOSH und JAMALI, 2009; HARIRFOROOSH et al., 2013). Auch für Anthrazykline wie Doxorubicin konnte eine Nephrotoxizität in verschiedenen Studien an Ratten (VAN HOESEL et al., 1984; STORM et al., 1989; VAN DE VRIE et al., 1994), Hunden (HAUCK et al., 2006), Katzen (O'KEEFE et al., 1993; KENT, 2013) und auch beim Menschen (LEWIN et al., 2005) nachgewiesen werden. Die auf die Nieren schädigende Wirkung vieler Substanzen ist auch in der Veterinärmedizin mitunter dadurch begründet, dass es durch die physiologischen Gegebenheiten und Aufgaben der Nieren zu einer vermehrten Anhäufung vieler Substanzen in den Nieren kommt und somit auch deren schädigender Einflüsse auf die Nieren. So konnte für Katzen ein RBF von 10,61 (ROSS und FINCO, 1981) - 13,66 ml/min/kg (JOHNS, 1980) nachgewiesen werden, was 20-25 % des Herzminutenvolumens entspricht. (KERL und COOK, 2005) Die physiologische GFR der Katzenniere liegt zwischen 1,72 (JOHNS, 1980) – 2,94 ml/kg/min. (ROSS und FINCO, 1981) Die Aufrechterhaltung des RBF und der GFR sind von enormer Wichtigkeit für die Nieren, nur so können die Nieren ihre physiologischen Aufgaben erfüllen, und werden selbst adäquat mit Sauerstoff versorgt. Kommt es durch hämodynamische Veränderungen wie z.B. einem Abfall des systemischen Blutdrucks zu einer Störung der Autoregulation der Nieren, welche nur innerhalb eines bestimmten MAP von den Nieren gewährleistet werden kann, führt dies einerseits zu einer verminderten Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen und andererseits zu einer Schädigung der Niere an sich. So kommt es immer wieder während Anästhesien bei Katzen aufgrund einer Vasodilatation, Hypovolämie und Medikamenten-induzierter negativer Inotropie des Herzens zu einem Blutdruckabfall. (HODGSON et al., 1998; GAYNOR et al., 1999; EGGER et al., 2009) und in manchen Fällen zu ANS: (WORWAG und LANGSTON, 2008) Von einer Hypotension während einer Anästhesie spricht man bei einem MAP < 60 mmHg und entsprechend einem systolischen arteriellen Blutdruck (SAP) < 80-90 mmHg. (CHEN et al., 2007) Es gibt keine Studie an Katzen, in welcher die Auswirkungen von multiplen Anästhesien auf die Nieren untersucht wurden. Um bei Katzen die Auswirkungen von Anästhesien auf die Integrität der Nierentubuli zu untersuchen wurde in dieser Studie ein Biomarker namens Retinol-binding Protein (RBP) verwendet, welcher im nächsten Kapitel genauer beschrieben ist.

2. Biomarker für akute Nierenschädigungen

Im Bereich der Biomarker für ANS wird seit vielen Jahren intensiv geforscht. Dies hat mehrere Gründe. Zum einen sind ANS auch in Zeiten moderner Medizin eine häufige Erkrankung und Komplikation. So konnte in der Humanmedizin eine durch LIAÑO und Mitarbeiter (1996) in Madrid durchgeführte Studie zeigen, dass die Inzidenz für ANS bei 209 pro einer Millionen Einwohner lag. Jede 267. Einlieferung war mit einer ANS verbunden. Die ATN war mit 45 % die häufigste Ursache für eine ANS, gefolgt von prärenalen ANS (21 %), akut auf chronischen Nierenschädigungen (12,7 %) und obstruktiven Nierenschädigungen (10 %). Die Mortalität war mit 60 % in der Gruppe mit ATN am höchsten. Die Gesamtmortalität lag bei 45 %, die korrigierte Mortalität, nach Ausschluss anderer Todesursachen, bei 27%. (LIANO und PASCUAL, 1996) HSU und Mitarbeiter (2007) konnten in einer Studie in Kalifornien zeigen, dass die Inzidenz von nicht-dialysepflichtigen ANS zwischen 1996 und 2003 von 322,7 auf 522,4 pro Jahr und 100000 Personen gestiegen ist, die Inzidenz von dialysepflichtigen ANS von 19,5 auf 29,5. (HSU et al., 2007) Zum anderen stellt die verzögerte Diagnose von ANS ein Problem dar. In der Praxis wird von einer ANS ausgegangen, wenn es zu einer Erhöhung der Serumkonzentration des Kreatinins (Anstieg um $44 \mu\text{mol/l}$ gegenüber des Wertes einer Basislinie oder Anstieg um mehr als 50 % gegenüber des Wertes der Basislinie), es zu einer Reduktion der kalkulierten Kreatininclearance um 50 % oder zu einem renalen Funktionsverlust, welcher zu einer Dialysepflicht führt, kommt. (THADHANI et al., 1996) Typische Hinweise im Urin wie die fraktionelle Natriumausscheidung sind hilfreiche Tests um zwischen einer prärenalen und renalen ANS zu unterscheiden. Mit Beginn der tubulären Dysfunktion kommt es zu einer erhöhten Natriumkonzentration im Urin, einem erniedrigten Urinspezifischen Gewichts (USG) aufgrund der verminderten Konzentrationsfähigkeit der Nieren und einer niedrigeren Urin/Plasma-Kreatinin-Ratio. Allerdings sind diese Parameter unter bestimmten Voraussetzungen, wie z.B. einer fortgeschrittenen CNS, der vorausgegangenen Gabe von Diuretika, bei Rhabdomyolyse, Radiokontrastmittel bedingte Nephropathie, ungenau. Bei der Beurteilung des Sediments fallen renale Tubuluszellen, granulierte Zylinder, insbesondere schlammbraune Zylinder auf.

Diese Untersuchungen helfen zusammen mit der Anamnese und klinischen Untersuchung eine Diagnose zu stellen. (ESSON und SCHRIER, 2002) Für das Outcome der Patienten ist es entscheidend schon frühe Stadien in der Entwicklung einer ANS, insbesondere der ATN, zu erkennen, um so ein frühes Eingreifen zu ermöglichen, schädliche Einflüsse zu beseitigen und eine bedachte Medikation und Infusionstherapie zu gewährleisten. (ESSON und SCHRIER, 2002) Da jedoch die herkömmlichen Untersuchungen ein frühzeitiges Erkennen einer ANS oft nicht ermöglichen, da sie erst bei fortgeschrittenem Stadium eine ANS aufzeigen, wurde nach anderen Möglichkeiten eine ANS frühzeitig aufzudecken gesucht. Insbesondere im Bereich der Biomarker für renale Tubulusschäden wurde intensiv geforscht. Harnenzyme, Harnproteine mit niedermolekularem Gewicht, Isoformen des Na^+/H^+ -Austauscher, das neutrophile Gelatinase-verbundene Lipocalin, das Cysteinreiche Protein 61, Kidney injury molecule-1, Interleukine und Adhäsionsmoleküle, Chemokine und Endothelin sind in den Fokus der Forschung geraten. (TROF et al., 2006)

2.1. Harnenzyme als Biomarker

Viele tubuläre Enzyme wurden als Biomarker für einen Tubulusschaden erforscht. Diese Enzyme stammen in erster Linie aus Lysosomen, der Bürstensaummembran und dem Zellzytoplasma der Tubuluszellen. Bei einem Tubulusschaden werden diese Enzyme aufgrund undichter Epithelien vermehrt in den Urin abgegeben. Sekundär kommt es durch Regenerationsprozesse zu vermehrter Produktion mit vermehrtem Anfall im Urin. (SCHERBERICH, 1990; D'AMICO und BAZZI, 2003) Harnenzyme sind sensitive Marker für die Entwicklung einer ANS mit einer Korrelation zwischen Ausmaß des Tubulusschadens und Enzymaktivität. (WESTHUYZEN et al., 2003)

2.1.1. N-Acetyl- β -glukosaminidase

Die N-Acetyl- β -glukosaminidase (NAG) befindet sich in den Lysosomen der proximalen Tubuluszellen und ist eines der am besten untersuchten Harnenzyme und eignet sich gut als Biomarker für ANS, insbesondere, wenn diese toxisch

bedingt sind (D'AMICO und BAZZI, 2003), für eine verzögerte Funktion des Transplantats nach einer Nierentransplantation (MUKHOPADHYAY et al., 2004), für chronische Glomerulopathien (BAZZI et al., 2002), für diabetische Nephropathien (IKENAGA et al., 1993), sowie für die Evaluierung der Nierenfunktion nach Bypassoperationen (ASCIONE et al., 1999). NAG als Biomarker weist jedoch auch einige Limitationen auf. So kommt es durch erhöhte Harnstoffwerte zu einer verminderten Enzymaktivität, aber auch durch bestimmte Toxine wie industrielle Lösungsmittel oder Schwermetalle. (BONDIOU et al., 1985) Andererseits kommt es zu einer Enzymerhöhung ohne Entwicklung einer klinisch relevanten ANS bei rheumatoider Arthritis (IQBAL et al., 1998), bei gestörter Glukosetoleranz (FUJITA et al., 2002), sowie bei Hyperthyreose (TOMINAGA et al., 1989)

2.1.2. Glutathion-S-Transferase

Die Glutathion-S-Transferase (GST) ist im Zytosol der proximalen Tubuluszellen lokalisiert. Es ist ein spezifischer und sensitiver Marker um die Entwicklung einer ANS vorherzusagen. (WESTHUYZEN et al., 2003)

2.1.3. Andere Harnenzyme

Auch die alkalische Phosphatase und die γ -Glutamyltransferase können als Biomarker herangezogen werden. Sie sind einfach zu messende Enzyme und scheinen so verlässlich wie NAG und GST zu sein. (WESTHUYZEN et al., 2003) Sie weisen jedoch den Nachteil auf, dass sie nur bis zu vier Stunden nach Urinentnahme stabil sind und eine Gelfiltration benötigen, um interferierende Substanzen zu beseitigen. (VAIDYA und BONVENTRE, 2006)

2.2. Mikroalbuminurie

Unter Mikroalbuminurie versteht man die Ausscheidung von Albumin mit Konzentrationen von 30-300 mg über 24 Stunden. (LAMBERS HEERSPINK et al., 2006) Sie dient als Biomarker für die Entwicklung und das Fortschreiten von

Nierenerkrankungen. Zum einen kommt es durch strukturelle und funktionelle Veränderungen im Glomerulum zu einer Mikroalbuminurie. (FUTRAKUL et al., 2009) Eine Studie an Ratten hat aber auch gezeigt, dass Albumin in höherer Konzentration im Glomerulum filtriert wird als früher angenommen und der Nachweis im Urin auf eine gestörte tubuläre Funktion hinweist, da physiologischerweise filtriertes Albumin durch Transzytose im proximalen Tubulus dem Organismus wieder zur Verfügung gestellt wird. (RUSSO et al., 2007) Mikroalbuminurie kann auch bei der kurz- und langfristigen Verabreichung von Chemotherapeutika und Antibiotika beobachtet werden. (KOCH NOGUEIRA et al., 1998; KERN et al., 2000; TUGAY et al., 2006) Limitiert wird der Nutzen als Biomarker jedoch durch einen Mangel an Spezifität einer Mikroalbuminurie für ANS. So kommt es bei starker körperlicher Anstrengung, Hämaturie, Harnwegsinfekten, Dehydratation, Fieber und Glykämie ebenfalls zu Mikroalbuminurie. (FERGUSON et al., 2008)

2.3. Kidney injury molecule-1

Das Kidney injury molecule-1 (KIM-1) ist ein transmembranäres Glykoprotein der Zellmembran. Strukturell gehört es zur Superfamilie der Immunglobuline und weist in der Ektodomäne eine cysteininhaltige sowie eine mucinhaltige Domäne auf. Physiologischerweise wird die mRNA und das Protein des KIM-1-Gens nur in niedriger Konzentration in der Niere exprimiert. Nach einer Ischämie der Niere kommt es jedoch zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration im Urin, da es aufgrund der Regeneration zu einer Proliferation der Zellen mit gesteigerter Expression kommt. (ICHIMURA et al., 1998) Durch Metalloproteinasen kommt es nach ischämischen Insulten zur Abspaltung der Ektodomäne von der relativ kleinen cytoplasmatischen Domäne. Doch nicht nur nach ischämischen Insulten, auch nach der Aufnahme von nephrotoxischen Substanzen, kommt es zum Anstieg der KIM-1-Konzentration im Urin, sodass KIM-1 als spezifischer und sensitiver Marker für ANS herangezogen werden kann. (BONVENTRE, 2008)

2.4. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin

Humanes Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) hat ein Molekulargewicht von 25 kD, welches in Granula der neutrophilen Granulozyten an Gelatinase gebunden ist. NGAL wird während der Neutrophilenreifung im Knochenmark synthetisiert, sowie in epithelialen Zellen nach Entzündungsprozessen und Entartung des Gewebes. (BORREGAARD et al., 1995; NIELSEN et al., 1996) So ist NGAL ein guter Biomarker für die Voraussage einer ANS. Die Konzentrationen steigen sowohl im Urin, als auch im Plasma an, bevor eine Änderung in der Serumkreatininkonzentration nachweisbar ist. Aber auch bei CNS dient NGAL als Biomarker und gibt eine gute Aussage über das Ausmaß der Schädigung bei Zystennieren, bei einer Glomerulonephritis oder einer diabetischen Nephropathie. NGAL ist dabei negativ proportional zur glomerulären Filtrationsrate. Bei kritisch kranken Patienten dient NGAL als prognostischer Wert. (BOLIGNANO et al., 2008; BOLIGNANO et al., 2009; BOLIGNANO et al., 2010) KAUFELD und Mitarbeiter (2012) wiesen jedoch einen limitierten Nutzen von NGAL bei Patienten mit Nierentransplantation aufgrund einer niedrigen Sensitivität nach. Weibliche Empfänger und Harnwegsinfektionen wurden als mögliche Gründe genannt. (KAUFELD et al., 2012)

2.5. Interleukin-18 und Fettsäurebindungsproteine

Viele weitere Biomarker für ANS wurden untersucht. So z.B. Interleukin-18, welches erhöhte Konzentrationen bei ANS verschiedener Genese aufweist, aber auch bei verzögerter renaler Transplantatfunktion und ischämischer ATN. (PARIKH et al., 2004; PARIKH et al., 2005) Aber auch die Fettsäurebindungsproteine (FABP) wurden in den letzten Jahren verstärkt als Biomarker für ANS erforscht. Diese Proteine dienen für den Fetttransport innerhalb von Zellen. Sowohl der Leber-, als auch der Herz-Typ des FABP, wurden in der Niere des Menschen nachgewiesen, und dienen als potentielle Biomarker für Nierenschädigungen. (FERGUSON et al., 2008)

2.6. Harnproteine mit niedermolekularem Gewicht

Harnproteine mit niedermolekularem Gewicht werden per Definition fast vollständig filtriert und zu 95 % im proximalen Tubulus reabsorbiert. Das Limit für die freie Filtration sind ein Gewicht über 30 – 40 kD oder ein molekularer Durchmesser von mehr als $40 \cdot 10^{-10}$ m abhängig von der Ladung. Kationen werden besser filtriert als Anionen, da die glomeruläre Basalmembran aufgrund der Glykosaminglykanheparansulfate negativ geladen ist. Zudem sind auch die Podozyten mit negativen Ladungen besetzt, sodass Anionen mit demselben Molekulargewicht wie Kationen nur zu 50 % gefiltert werden. An der Bürstensaummembran werden Peptide und Proteine gebunden und reabsorbiert. Peptide werden teilweise auch gespalten und die Aminosäuren über spezielle Carrier in die Zellen aufgenommen. Proteine werden durch apikale Vesikel aufgenommen, welche mit Lysosomen verschmelzen, und anschließend durch proteolytische Enzyme abgebaut. Die Aminosäuren werden daraufhin ins Interstitium abgegeben und stehen somit über den Blutstrom dem Körper wieder zur Verfügung. (GUDER und HOFMANN, 2008) Bei einer Schädigung der proximalen Tubuluszellen oder einer Überschreitung der Reabsorptionskapazität aufgrund eines vermehrten Anfalls, kommt es zu einer verminderten Reabsorption und somit zu einer gesteigerten Ausscheidung dieser Proteine mit dem Harn. (TROF et al., 2006) Gut untersuchte Biomarker für den Nachweis eines proximalen Tubulusschadens sind α_1 - und β_2 -Mikroglobulin, Retinol-binding Protein und Cystatin C. (WESTHUYZEN et al., 2003)

2.6.1. Alpha₁-Mikroglobulin

Alpha₁-Mikroglobulin (α_1 M) hat ein Molekulargewicht von 27-33 kD und wird in der Leber synthetisiert. Annähernd die Hälfte der Proteine zirkuliert an Immunglobulin A (IgA) gebunden. (GRUBB, 1992) Die ungebundene Form wird in den Glomerula filtriert und in den proximalen Tubuluszellen reabsorbiert. Im Gegensatz zu Beta₂-Mikroglobulin (β_2 M) ist es über eine größere Spannbreite des pH-Werts im Urin, welcher im klinischen Alltag vorkommt, stabil. (BERGGARD

und BEARN, 1968; EKSTROM und BERGGARD, 1977; YU et al., 1983) Es ist ein sensibler Marker für einen Schaden der proximalen Tubuluszellen auch im frühen Stadium einer Schädigung, wenn noch keine histologischen Veränderungen nachweisbar sind. (MANTUR et al., 2000) HERGET-ROSENTHAL und Mitarbeiter (2004) konnten zeigen, dass Patienten mit ATN ohne Oligurie und erhöhten α_1 M-Konzentration im Urin, ein ungünstigeres Outcome aufweisen sowie eine höhere Gefahr, eine Nierentransplantation zu benötigen. (HERGET-ROSENTHAL et al., 2004) Bestimmte Erkrankungen wie z.B. Lebererkrankungen, affektive Störungen und HIV-Infektionen führen zu veränderten Serumkonzentrationen, was unter diesen Bedingungen α_1 M zu einem weniger geeigneten Biomarker für ANS macht. (PENDERS und DELANGHE, 2004)

2.6.2. Beta₂-Mikroglobulin

Beta₂-Mikroglobulin (β_2 M) hat ein Molekulargewicht von 11,8 kD und ist die Leichtkette des Haupthistokompatibilitätskomplex-I-Moleküls, welches auf kernhaltigen Zellen exprimiert wird. Beim Abbau dieser Zellen dissoziiert β_2 M von der Schwereketten und zirkuliert als Monomer. (TOLKOFF-RUBIN et al., 1988) In der Niere wird es filtriert und beinahe vollständig in den proximalen Tubuluszellen reabsorbiert und katabolisiert. (BERNIER und CONRAD, 1969) Bei einer gestörten Nierenfunktion kommt es zu erhöhten Werten von β_2 M im Urin und dient somit als Biomarker einer frühen Tubulusschädigung aufgrund nephrotoxischer Substanzen (SCHENTAG und PLAUT, 1980), Operationen am Herzen (DEHNE et al., 1995) und Nierentransplantationen (SCHAUB et al., 2005). Der Nachteil bei β_2 M als Biomarker liegt darin, dass es in Urin mit einem pH-Wert unter sechs nicht stabil ist und so unter klinischen Bedingungen als Biomarker zu ungenau ist. (BERNARD und LAUWERYS, 1981)

2.6.3. Cystatin-C

Cystatin-C ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 13 kD, wird von den meisten kernhaltigen Zellen produziert (ABRAHAMSON et al., 1990) und ist

einer der wichtigsten Inhibitoren der Cysteinproteasen. Serumkonzentrationen sind unabhängig von Geschlecht, Alter und Muskelmasse. Cystatin-C wird frei in den Glomerula filtriert und in den Tubuli reabsorbiert und katabolisiert, aber nicht in die Tubuli sezerniert. (GRUBB, 1992) Cystatin-C im Serum ist ein sensitiver Marker für die GFR und ein besserer Marker als Serumkreatinin um Tod und kardiovaskuläre Erkrankungen bei älteren Patienten vorherzusagen. (SHLIPAK et al., 2005) Auch bei Hunden konnte festgestellt werden, dass im Serum gemessene Cystatinkonzentrationen sensitiver als Kreatininkonzentrationen sind um eine reduzierte GFR festzustellen. Die Cystatinkonzentration war hierbei unbeeinflusst von anderen Erkrankungen wie Neoplasien oder Infektionen. (WEHNER et al., 2008) Bei Patienten mit tubulären Schäden ist die Konzentration von Cystatin-C im Urin erhöht. (UCHIDA und GOTOH, 2002) Cystatin-C und α_1 M haben die größte diagnostische Aussagekraft bezüglich der Entwicklung einer ATN ohne Oligurie. So weisen Patienten, welche eine Nierentransplantation benötigen werden, erhöhte Werte im Urin auf. (HERGET-ROSENTHAL et al., 2004)

2.6.4. Retinol-binding Protein

Das Retinol-binding Protein (RBP) ist schon vor mehreren Jahrzehnten in den Fokus der Forschung geraten. KANAI und Mitarbeiter (1968) fanden heraus, dass beim Menschen Vitamin A in Form von Retinol an ein Protein gebunden im Plasma transportiert wird: Retinol-binding Protein. (KANAI et al., 1968) Vitamin A spielt nicht nur für das Auge eine wichtige Rolle, sondern auch für das Immunsystem, das Wachstum und die Zelldifferenzierung, und ist von großer Bedeutung in der Aufrechterhaltung der Homöostase des Retinols. (BLOMHOFF, 1994) Bei vielen Effekten des Vitamins spielt der Einfluss der Retinsäure auf die Genexpression eine entscheidende Rolle. (CHAMBON, 1996) RBP dient dazu das wasserunlösliche Retinol im Plasma von der Leber zu den peripheren Geweben zu transportieren. Weiterhin soll es als Schutz für das Retinol gegen oxidativen Stress dienen, sowie die Bereitstellung adäquater Mengen an Retinol im Körper gewährleisten. (SMITH und GOODMAN, 1979)

2.6.4.1. Struktur

Das Molekulargewicht von RBP beträgt circa 21 kD mit einer Bindungsstelle für ein Retinolmolekül. RBP zirkuliert in einem 1:1 molaren RBP-Transthyretin-Komplex. (KANAI et al., 1968)

Das humane RBP ist eine einzelne Polypeptidkette bestehend aus 182 Aminosäuren, sowie drei Disulfidbrücken (RASK et al., 1979; RASK et al., 1987) und ist dem bovinen β -Laktoglobulin, dem humanen α_1 -Mikroglobulin, sowie dem α_1 -Mikroglobulin von Ratten ähnlich. (RASK et al., 1987) RBP besteht aus einer globulären Domäne, bestehend aus dem spiralförmigen Amino-Terminus, einem β -Faltblattkern, einer α -Helix und einem spiralförmigen Carboxyl-Terminus. Ein β -Fass geformt aus acht auf- und absteigenden antiparallelen Strängen dient der Aufnahme eines Retinolmoleküls. (NEWCOMER et al., 1984)

2.6.4.2. Retinol-binding Protein-Transthyretin-Interaktion

Bei Säugetieren zirkuliert RBP zum größten Teil in einem 1:1 molaren Protein-Protein-Komplex mit Transthyretin (früher Präalbumin genannt). Transthyretin ist ein stabiles, symmetrisches Tetramer bestehend aus vier identischen Untereinheiten zu je 127 Aminosäuren und bewahrt durch sein Molekulargewicht von 54 kD RBP vor der glomerulären Filtration. (VAN JAARSVELD et al., 1973; HELLER und HORWITZ, 1974; KANDA et al., 1974; MONACO, 2002) Die Bindung zwischen RBP und Transthyretin ist von der Ionenstärke abhängig. Bei einer niedrigen Ionenstärke kommt es zur Dissoziation des Komplexes. Die maximale Affinität liegt bei einem pH-Wert von 7,4 und nimmt bei höherem und niedrigerem pH-Wert graduell ab. (PETERSON, 1971; VAN JAARSVELD et al., 1973) Durch die Bildung des RBP-Transthyretin-Komplexes kommt es zu einer Stabilisierung der Bindung von Retinol an RBP. (PETERSON, 1971) Transthyretin ist auch für den Transport von Thyroxin verantwortlich. Die Bindungsstellen für Thyroxin und RBP an Transthyretin sind jedoch unabhängig und beeinflussen sich nicht. (VAN JAARSVELD et al., 1973) Pro Transthyretinmolekül wird ein Molekül RBP gebunden. In vitro konnte gezeigt

werden, dass auch die Bindung zweier RBP-Moleküle pro Transthyretinmolekül möglich ist, jedoch nimmt die Affinität für ein zweites RBP-Molekül mit der Bindung des ersten RBP-Moleküls deutlich ab. (MONACO, 2002) Der Komplex von apo-RBP (RBP ohne gebundenes Retinol) mit Transthyretin weist eine deutlich höhere Dissoziationskonstante auf, als der Komplex von holo-RBP (RBP mit gebundenem Retinol) mit Transthyretin. (FEX et al., 1979) Dieser Mechanismus dient dem Zurückhalten von Retinol, welches an RBP gebunden ist, im Plasma und der Ausscheidung von apo-RBP als niedermolekulares Molekül mit 21 kD durch glomeruläre Filtration. (MONACO, 2000)

2.6.4.3. Retinol-binding Protein-Retinol-Interaktion

In zahlreichen Studien wurde die Interaktion von Retinol und ähnlichen Substanzen mit RBP untersucht. Unter natürlichen Bedingungen bindet in menschlichem Plasma all-trans-Retinol an RBP wie HELLER und Mitarbeiter (1973) zeigen konnten. Auch Retinol-Isomere können an RBP binden und verhindern dann die Bindung von einem weiteren all-trans-Retinolmolekül, da sowohl all-trans-Retinol als auch die Isomere an die gleiche Bindungsstelle binden. (HELLER und HORWITZ, 1973) In einer weiteren Studie untersuchten COGAN und Mitarbeiter (1976) die Affinität von RBP für Retinol, Retinsäure, Retinylacetat und Retinylpalmitat sowohl beim Menschen als auch beim Huhn und es konnte gezeigt werden, dass sich die verschiedenen Substanzen bei Mensch und Huhn sehr ähnlich verhalten, wobei Retinol die höchste Affinität zu RBP zeigt, gefolgt von Retinsäure und Retinylacetat, jedoch Retinylpalmitat eine nur sehr schwache Affinität aufzeigt. (COGAN et al., 1976) Jedoch fanden in einer anderen Studie HORWITZ und Mitarbeiter (1973) heraus, dass die Bindung von Retinsäure und Retinylacetat zu einer Konformationsänderung des RBP führt, welche die Bindung dieses Komplexes an Transthyretin unmöglich macht. (HORWITZ und HELLER, 1973) GOODMAN und Mitarbeiter (1972) wiesen nach, dass die Bindung von Retinol an RBP deutlich stabiler ist, wenn RBP im Komplex mit Transthyretin vorliegt. Weiter konnte gezeigt werden, dass RBP kein Cholesterol bindet, eine geringe Affinität für Phytol und β -Karotin vorliegt, sodass insgesamt die Bindung zwischen RBP und all-trans-Retinol als hoch- aber nicht absolut spezifisch zu bezeichnen ist. (GOODMAN und RAZ, 1972)

2.6.4.4. Retinol-binding Protein in verschiedenen Spezies

RBP wurde neben dem Menschen und der Katze auch bei vielen anderen Spezies nachgewiesen, unter anderem bei Ratten, Affen, Schweinen, Kaninchen, Rindern und Hunden. Das Molekulargewicht von RBP beträgt bei allen circa 20 kD und bindet ein Retinolmolekül pro RBP-Molekül und zirkuliert in einem Komplex mit Transthyretin. (GOODMAN, 1980) Bei Fischen beträgt das Molekulargewicht von RBP hingegen nur 16 kD und bindet nicht an Transthyretin, ähnlich wie bei der Kaulqualle, wobei jedoch bei erwachsenen Fröschen Retinol durch einen RBP-Transthyretin-Komplex transportiert wird. (SHIDOJI und MUTO, 1977)

2.6.4.5. Produktion und Sekretion durch die Leber

RBP wird in der Leber synthetisiert. Der ernährungsbedingte Vitamin A-Status spielt eine entscheidende Rolle als Regulator der RBP-Sekretion. So kommt es bei einem Retinolmangel zu sinkenden Plasma-RBP-Werten und steigendem RBP-Gehalt in der Leber. Die Sekretion aus den Hepatozyten nimmt ab, jedoch nicht die Biosynthese. (SOPRANO et al., 1988) Nach Applikation von Retinol kommt es zur Entleerung der RBP-Speicher der Leber. (SMITH und GOODMAN, 1979) (RONNE et al., 1983) Der Vitamin-A-Status nimmt jedoch keinen entscheidenden Einfluss auf den Transthyretingehalt im Plasma. Die Sekretion der beiden Proteine durch die Leber wird unabhängig voneinander reguliert. (NAVAB et al., 1977) Zur Komplexbildung kommt es aber dennoch innerhalb der Zelle im endoplasmatischen Retikulum. (BELLOVINO et al., 1996; GAETANI et al., 2002) Bis zu 80 % des RBP lassen sich im endoplasmatischen Retikulum nachweisen, im rauen endoplasmatischen Retikulum mehr als im glatten. Auch im Golgi-Apparat lässt sich RBP nachweisen. (SMITH und GOODMAN, 1979) Bei chronischen Lebererkrankungen kommt es zu einem Abfall von RBP im Plasma, insbesondere bei der Ethanol induzierten Zirrhose, jedoch auch bei Leberfibrose und Leberkarzinom. (FREY et al., 2008) Doch nicht nur in der Leber auch in Adipozyten wird RBP gebildet und sezerniert. So konnte in einem Versuch an Ratten gezeigt werden, dass in Fettgewebe aus dem Inguinal-

und Rückenbereich, dem Mesenterium, dem Nebenhoden, im Bereich um die Nieren, sowie in braunem Fettgewebe mRNA von RBP nachgewiesen werden kann und bis zu 37 % dem Gehalt in der Leber von Ratten entspricht. (TSUTSUMI et al., 1992)

2.6.4.6. Rezeptoren und Recycling in der Niere

Die Nieren spielen beim Recycling des nicht an Transthyretin gebundenen RBP eine entscheidende Rolle. Circa vier bis fünf Prozent der RBP-Retinol Komplexe sind nicht an Transthyretin gebunden und unterliegen somit der glomerulären Filtration. Im proximalen Tubulus kommt es rezeptorvermittelt zur Aufnahme des RBP in die Tubuluszellen und somit zum Recycling. (USUDA et al., 1983; KATO et al., 1984; MAKOVER et al., 1989; BLOMHOFF et al., 1991) Es konnte gezeigt werden, dass es durch Retinol zur Stimulierung des für die Aufnahme verantwortlichen Rezeptors Megalin kommt. (LIU et al., 1998) Megalin hat ein Molekulargewicht von 600 kD und gehört zur Low Density Lipoprotein (LDL)-Rezeptorfamilie. (CHRISTENSEN et al., 1998) Megalin fungiert über Endozytose für viele Substanzen als Rezeptor, u.a. Lipoproteine, Albumin, bestimmte Medikamente, sowie die Transportproteine für Cobalamin und Vitamin D. (MOESTRUP et al., 1995; CUI et al., 1996; CHRISTENSEN et al., 1998) Demnach spielt Megalin eine entscheidende Rolle bei der Zurückhaltung vieler Substanzen. (CHRISTENSEN und BIRN, 2001) Die Aufnahme von RBP in die Tubuluszellen erfolgt apikal, die Sekretion des neu synthetisierten RBP basolateral. (CHRISTENSEN et al., 1992) In den Lysosomen kommt es zum Abbau von RBP. In Studien an Mäusen mit Ausschaltung des Megalins konnte gezeigt werden, dass es zu einer hohen Mortalität und zur Entwicklung von Abnormalitäten kommt, sowie einer erhöhten RBP- und Retinolausscheidung durch den Urin. (CHRISTENSEN et al., 1999) MARINO und Mitarbeiter hingegen gehen in erster Linie nicht von einer Degradierung des RBPs aus, sondern von einer durch Megalin-vermittelten Endozytose mit Transzytose des RBP-Retinol-Komplexes. (MARINO et al., 2001)

Retinol dissoziiert von RBP bevor es in das Zellinnere der Zielzellen gelangt. Aufgrund seines hydrophoben Charakters kann es die Plasmamembran durch freie Diffusion frei passieren. (NOY, 2000) In einigen Geweben wie z.B. dem

Pigmentepithel der Retina, im Fettgewebe oder in der Muskulatur erfolgt die Aufnahme jedoch über einen Oberflächenrezeptor namens STRA6, welcher neun transmembranäre Domänen aufweist. Über eine Pore gelangt Retinol in das Zellinnere. Die Aufnahme ist an die Lecithin Retinol Acyltransferase (LRAT), welches die Umwandlung in Retinylester als Speicherform ermöglicht, und an zelluläres Retinol-Binding Protein-I (CRBP-I) gebunden. Retinol freies CRBP-I (apo-CRBP-I) koppelt an eine Region des Rezeptors STRA6 und bindet Retinol mit hoher Affinität und stellt es metabolisierenden Enzymen im Zellinneren zur Verfügung. Enzyme wie LRAT registrieren mit Retinol beladenes CRBP-I (holo-CRBP-I), entkoppeln die Bindung und schaffen so neues apo-CRBP-I, welches für die Bindung an STRA6 wieder zur Verfügung steht. (KAWAGUCHI et al., 2007; AMENGUAL et al., 2012; BERRY et al., 2012b; ZHONG et al., 2013) Transthyretin spielt eine entscheidende Rolle bei der Interaktion zwischen RBP und STRA6, da es die Aufnahme von Retinol unterbindet. Nur wenn die Konzentration von holo-RBP diejenige von Transthyretin übersteigt ist eine Aufnahme über STRA6 möglich. (BERRY et al., 2012a)

2.6.4.7. Retinol-binding Protein als Biomarker für Nierenschädigungen

Bei Patienten mit tubulären Schäden der Niere aufgrund von ischämischen Insulten, einer Rhabdomyolyse, Antibiotikabehandlung oder Vergiftung mit Lösungsmitteln, Pestiziden oder Schwermetallen kommt es zu einer vermehrten RBP-Ausscheidung im Urin. RBP ist verglichen mit NAG, ein Enzym mit tubulärem Ursprung, oder $\beta_2\text{M}$, deutlich sensitiver als Biomarker für einen tubulären Schaden. So treten RBP-Erhöhungen im Urin deutlich früher als NAG-Erhöhungen auf, RBP ist in saurem Urin deutlich stabiler als $\beta_2\text{M}$. Da wie bereits oben beschrieben die Reabsorption von Proteinen in der Niere ein sättigbarer Prozess ist, ist die Beurteilung von RBP im Urin (uRBP) und anderen Proteinen nur bei normaler oder geringgradig reduzierter GFR aussagekräftig. (BERNARD und LAUWERYS, 1981; BERNARD et al., 1987) Dass uRBP als Biomarker nur bei erhaltener oder geringgradig reduzierter GFR als Biomarker für die tubuläre Integrität herangezogen werden kann, wird u.a. bei Patienten mit CNS deutlich. Hier kommt es bei fortschreitendem Funktionsverlust der Nieren zu einem

deutlichen Anstieg von RBP im Plasma, was auf eine verminderte Filtration zurückgeführt wird. (AYATSE, 1991; FREY et al., 2008; HENZE et al., 2010) Bereits 1976 wiesen SCARPIONI und Mitarbeiter die positive Korrelation zwischen steigenden Kreatinin- und RBP-Werten im Serum bei Menschen mit Nierenerkrankungen nach. Bei vorwiegend tubulären Läsionen konnte jedoch ein signifikanter Anstieg der uRBP-Konzentration nachgewiesen werden. (SCARPIONI et al., 1976) Bei Patienten, welche an CNS aufgrund einer interstitiellen Fibrose leiden, konnte gezeigt werden, dass das Verhältnis von RBP zu Kreatinin im Urin (uRBP/c) signifikant erhöht ist und bei einer Fibrose von über 25 % des Nierenparenchyms eine Spezifität von über 95 % aufweist. (PALLET et al., 2014) Bei Patienten mit Nierentransplantation konnte gezeigt werden, dass erhöhte uRBP-Werte für einen Funktionsverlust sprechen und mit einer Abnahme der Nierenfunktion einhergehen. So konnten MATOS und Mitarbeiter (2009) nachweisen, dass morphologische Veränderungen wie interstitielle Fibrose und tubuläre Atrophie zwar nicht mit uRBP-Levels assoziiert waren. Jedoch ergab eine multivariate Analyse, dass als einzige Variable ein uRBP-Level $\geq 1\text{ mg/l}$ mit einem Nierenfunktionsverlust verbunden war. (DE MATOS et al., 2010) Auch bei Operationen am offenen Herzen, wo postoperative Nierenschädigungen ein häufiges Problem sind, kommt es postoperativ, vor allem drei Stunden nach OP, zu einem signifikanten Anstieg von uRBP. Innerhalb von 36 Stunden, bzw. vier Tagen erholen sich die Werte deutlich, fallen jedoch nicht bis auf die Ausgangswerte ab. (BLAIKLEY et al., 2003) Bereits 2001 konnten CAMARA und Mitarbeiter zeigen, dass eine durch Cyclosporin bedingte Nephrotoxizität nach Herztransplantationen durch uRBP nachgewiesen werden kann. Von den vierzehn Patienten mit hohen uRBP-Werten entwickelten fünf eine Nierenschädigung im Endstadium und benötigten Dialyse. Von den 23 Patienten mit niedrigen uRBP-Werten entwickelte kein Patient eine Nierenschädigung im Endstadium, und es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen uRBP-Konzentrationen und Aufrechterhaltung der Nierenfunktion nachgewiesen werden. (CAMARA et al., 2001) CHINEN und Mitarbeiter (2006) untersuchten langfristig 43 Patienten mit Herztransplantation auf die Entwicklung von Nierenschädigung. Auch diese Patienten erhielten Cyclosporin. Von den 43 Patienten wiesen 16 bei Einschluss in die Studie erhöhte uRBP-Werte von über $0,4\text{ mg/l}$ auf. Nach 18 Monaten wiesen knapp 70% dieser Patienten eine reduzierte Nierenfunktion auf. Es ergab sich bei uRBP-Werten über $0,4\text{ mg/l}$ ein

relatives Risiko von 3,47 eine reduzierte Nierenfunktion innerhalb eines Jahres zu entwickeln. Verglichen dazu entwickelten knapp 30% der 27 Patienten mit normalen uRBP-Werten eine eingeschränkte Nierenfunktion. (CHINEN et al., 2006)

2.6.4.8. Retinol-binding Protein beim Hund

Canines RBP hat ein Molekulargewicht von circa 21 kD und zirkuliert zum Teil in einem Komplex mit Transthyretin. (MUTO et al., 1973) Immunhistochemisch kann RBP in den Hepatozyten der Leber und vor allem in den proximalen Tubuluszellen des Konvoluts der Nieren nachgewiesen werden, jedoch physiologischerweise nicht im Urin. (RAILA et al., 2000; RAILA et al., 2003a) Da jedoch beim Hund im Gegensatz zu vielen anderen Spezies ein größerer Anteil des RBPs nicht an Transthyretin gebunden ist, kann das freie RBP durch das Glomerulum filtriert werden, wird jedoch durch den Megalinrezeptor durch Endozytose wieder in die Tubuluszellen aufgenommen und ist aus diesem Grund bei gesunden Hunden im Urin nicht nachweisbar (MUTO et al., 1973; BURRI et al., 1993; CHRISTENSEN et al., 1999) Megalin ist in der apikalen Membran der Zellen des proximalen Konvoluts und im geraden Segment des proximalen Tubulus nachweisbar. Nicht nachweisbar ist es im Glomerulum sowie im distalen Tubulus und Sammelrohr. (RAILA et al., 2003a) Eine weitere Besonderheit beim Hund ist, dass Retinol und Retinylester im Urin ausgeschieden werden. Aufgrund des hydrophoben Charakters ist hierfür ein Carrierprotein im hydrophilen Urin nötig. SCHWEIGERT und Mitarbeiter (2002) wiesen das Tamm-Horsfall-like-Glykoprotein als diesen Carrier nach. (SCHWEIGERT et al., 2002) Es lässt sich im dicken aufsteigenden Teil der Henle Schleife sowie im distalen Konvolut des Tubulus insbesondere in der apikalen Membran nachweisen. (RAILA et al., 2003a)

In einer Studie an 64 Hunden mit natürlich vorkommenden Nierenerkrankungen konnten RAILA und Mitarbeiter (2010) einen positiven Zusammenhang zwischen steigenden uRBP- und UP/C-Konzentrationen nachweisen. Allerdings konnte in dieser Studie keine signifikante Korrelation zwischen uRBP und verminderter exogener Plasmakreatininclearance bei nichtazotämischen Hunden nachgewiesen werden, so dass uRBP nicht sensitiv genug ist um eine reduzierte

Plasmakreatininclearance aufzuzeigen, bevor die Tiere azotämisch werden. In der Studie wurden 64 Hunde in fünf verschiedene Gruppen eingeteilt, abhängig von der exogenen Plasmakreatininclearance, der Plasmakreatinkonzentration sowie der UP/C-Konzentration. Zur Messung der RBP-Werte wurde ein ELISA verwendet. Bei der Kontrollgruppe variierten die uRBP/c-Werte zwischen 0,007 und 0,03 µg/mg, bei den erkrankten Hunden reichten die Werte bis hin zu 1,32 µg/mg. Die Gruppe der Hunde mit Azotämie und Proteinurie wiesen die höchsten uRBP/c-Werte auf. Verglichen mit allen anderen Hunden waren in dieser Gruppe aber auch die Plasma-RBP-Konzentrationen erhöht. (RAILA et al., 2010) Man nimmt an, dass die erkrankte Niere mit einer verminderten GFR nicht mehr adäquat in der Lage ist freies RBP mit einem Molekulargewicht von 21 kD ausreichend zu filtrieren und es zu einem gestörten Katabolismus kommt. Anders kommt es bei einem Schaden des Glomerulums mit erhöhter Proteindurchlässigkeit zu einer Sättigung der Proteinaufnahme im Tubulus, sodass vermehrt RBP ausgeschieden wird. Bei einer Schädigung des Tubulus kann es auch bei intaktem Glomerulum zu erhöhten RBP-Werten kommen, da die Rezeptoren nicht mehr in der Lage sind RBP ausreichend durch Endocytose wieder aufzunehmen. Dies hat zur Folge, dass uRBP aufgrund der Tatsache des sättigbaren Prozesses nur bei normaler bis geringgradig reduzierter GFR beurteilt werden kann. (BERNARD et al., 1987; GEKLE, 2005; RAILA et al., 2010)

Im Jahr 2003 wiesen RAILA und Mitarbeiter deutlich erhöhte uRBP-Werte bei Hunden mit CNS nach. (RAILA et al., 2003b) In einer weiteren Studie fanden RAILA und Mitarbeiter (2003) heraus, dass bei Hunde mit Urolithiasis die uRBP/c-Werte signifikant erhöht waren, jedoch bezüglich des Steinmaterials kein Unterschied festzustellen war. (RAILA et al., 2003c) Auch FORTERRE und Mitarbeiter (2004) beschrieben erhöhte uRBP-Werte bei Hunden mit CNS. (FORTERRE et al., 2004)

MADDENS und Mitarbeiter validierten 2010 zwei Immunoassays für den Nachweis von RBP im Urin von Hunden. Hunde mit Nierenschädigungen wiesen hierbei signifikant erhöhte Werte auf. Interessanterweise wiesen die Kaninchen-Antikörper gegen menschliches RBP eine geringere Spezifität auf als Hühner-Antikörper gegen menschliches RBP bei der Messung von uRBP bei Hunden, sodass bei Hühner-Antikörpern und kaninem uRBP von einer besseren Kreuzreaktivität auszugehen ist. (MADDENS et al., 2010)

SMETS und Mitarbeiter (2010) untersuchten uRBP bei gesunden und chronisch nierenkranken Hunden. Bei den gesunden Hunden variierten die uRBP/c-Ratios zwischen 0 und 0,9 mg/g, Hunde mit CNS wiesen signifikant höhere Werte auf mit einem medianen Wert von 53, 4 mg/g (6,8- 1372,2 mg/g). Bei den gesunden Hunden konnten zwischen den jungen und älteren Tieren kein Unterschied festgestellt werden. Es bestand eine hohe Korrelation zwischen uRBP/c mit Serumkreatinin und –harnstoff sowie dem IRIS-Stage der Nierenschädigung. (SMETS et al., 2010)

MADDENS und Mitarbeiter (2011) wiesen bei Hunden mit Pyometra signifikant erhöhte uRBP-Werte auf. Hunde mit Pyometra, jedoch ohne Proteinurie (UP/C < 0,5) hatten wiederum signifikant niedrigerer uRBP-Werte im Vergleich zu Hunden mit Pyometra und Proteinurie. Histologisch wurden die Nieren bei zehn Hunden mit Pyometra untersucht, wobei fünf Hunde eine Glomerulosklerose, fünf eine tubuläre Atrophie und sieben eine interstitielle Nephritis mit Infiltration von Lymphozyten und Plasmazellen, sowie fünf Hunde fibrotische Veränderungen des Interstitiums aufwiesen. (MADDENS et al., 2011)

2.6.4.9 Retinol-binding Protein bei der Katze

RBP lässt sich bei gesunden Katzen im Serum, jedoch nicht im Urin nachweisen. In der Leber ist RBP vor allem in den periportalen Hepatozyten vorhanden. In den Nieren ist RBP nur in den Epithelzellen des proximalen Konvoluts der Nephrone nachweisbar und zeigt eine starke Immunreaktivität subapikal in zytoplasmatischen Vesikeln, wohingegen das Zytoplasma weniger stark reagiert. (RAILA et al., 2001) Bei Katzen weist uRBP eine nicht vollständige, aber bedeutende Kreuzreaktivität mit humanen RBP-Antikörpern auf. (BURRI et al., 1993) VAN HOEK und Mitarbeiter validierten 2008 einen ELISA (Immundiagnostik AG, Deutschland) um RBP im Urin von Katzen nachzuweisen. Die Mikrotiterplatte dieses ELISA ist mit polyklonalen Kaninchen-Antikörpern gegen menschliches RBP beschichtet und wurde auch in unserer Studie verwendet (für genauen Testablauf siehe Material und Methoden). Zehn gesunde Katzen, zehn mit einer CNS und 13 mit Hyperthyreose wurden untersucht. Bei den gesunden Katzen war kein uRBP nachweisbar, wobei eine Testsensitivität von

1,37 µg/l nachgewiesen wurde. Die Katzen mit CNS wiesen uRBP-Werte zwischen 1,9 und 23,0 µg/l auf, wobei eine Katze Werte unterhalb der Testsensitivität hatte. Die uRBP/c-Werte variierten zwischen 2 und 43 µg/g. (VAN HOEK et al., 2008) Bei Katzen mit Hyperthyreose, welche ebenso wie Katzen mit CNS erhöhte uRBP-Werte aufweisen, fallen die uRBP-Werte nach Behandlung ab. Man geht bei erkrankten hyperthyreoten Katzen von einer Beeinträchtigung der Tubulusfunktion der Nieren aus. (VAN HOEK et al., 2009b) Bei hyperthyreoten Katzen mit zusätzlicher CNS fallen die uRBP-Werte auch nach Behandlung nicht so stark ab wie bei den hyperthyreoten Katzen ohne CNS. Allerdings sind bei diesen Katzen die uRBP-Werte vor Behandlung schon deutlich höher im Vergleich zu den Katzen, welche nur an Hyperthyreose leiden. (VAN HOEK et al., 2009a)

III. MATERIAL UND METHODEN

Diese Studie wurde im Rahmen einer Studie bei Katzen mit Fibrosarkom durchgeführt. Hierbei wurde die Wirkung von intravenös verabreichtem Doxorubicin, welches in Liposomen verpackt war, evaluiert. Die Studie wurde von der Regierung von Oberbayern genehmigt (AZ: 55.2.-1-54-2532- 154-11). Von jedem Besitzer der an der Studie teilnehmenden Katzen wurde eine Einwilligungserklärung vor Einschluss in die Studie unterschrieben.

1. Studiendesign

Dreizehn Katzen aus Privatkatzenhaushalten wurden in diese Studie eingeschlossen, sechs männliche und sieben weibliche Tiere. Das mediane Alter der Katzen betrug elf Jahre (Varianz 8 bis 15 Jahre). Zwölf der Tiere waren Europäische Kurzhaarkatzen, sowie eine Norwegische Waldkatze. Alle Katzen litten an einem inoperablen Fibrosarkom und nahmen gleichzeitig an einer weiteren Studie Teil, welche den therapeutischen Effekt von thermosensitiven Liposomen, welche Doxorubicin (TSL-D) enthalten, auf Fibrosarkome untersuchte. Vor Einschluss der Katzen in die Studie wurde eine kardiologische Abklärung inklusiv Herzultraschall durchgeführt. Keine der Katzen hatte Hinweise auf eine Herzerkrankung. Vor jeder Behandlung (insgesamt pro Katze 2 – 7 Sitzungen in Narkose), erhielten die Katzen eine intravenöse Infusion (Sterofundin, Braun, Melsungen, Deutschland) für zwei Stunden mit einer Rate von 10 ml/kg/h. Die intravenöse Gabe von TSL-D fand unter lokaler Hyperthermie des Fibrosarkoms statt (BSD-50 PPH hyperthermia system, BSD Medical Corporation, Salt Lake City, USA). Die Anästhesiedauer betrug im Medianwert 165 Minuten (Varianz 120 – 300 Minuten). Die intratumorale Zieltemperatur war 41,5°C, welche durch eine intratumorale Temperatursonde kontrolliert und für 60 Minuten aufrechterhalten wurde. TSL-D wurde über 15 Minuten in einer Dosis von 0,1 -0,8 mg/kg (0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg) verabreicht und dazu mit 5 %iger Glukose auf 10 ml verdünnt. Nach Ablauf der 15 Minuten wurden die Katzen mit 10 ml/kg/h Sterofundin

(Sterofundin, Braun, Melsungen, Deutschland) infundiert. Vor jeder Anästhesie wurden die Serumkreatininwerte kontrolliert. Alle Katzen wurden mit 0,2 mg/kg Methadon (Comfortan, Albrecht, Aulendorf, Deutschland) intravenös prämediziert. Nach fünf Minuten wurden 1 - 3 mg/kg Alfaxalon (Alfaxan, Vetoquinol, Ravensburg, Deutschland) als Narkoseeinleitung injiziert. Nach orotrachealer Intubation wurde die Anästhesie mit Isofluran (IsoFlo, ecuphar, Greifswald, Deutschland) in 100% Sauerstoff aufrechterhalten mit dem Ziel einer endtidalen Isoflurankonzentration von 1,4%, welche an die Bedürfnisse des Patienten angepasst wurde, um eine stabile Anästhesie zu erzielen. Die Katzen wurden durch die Anästhesiemaschine (Fabius plus, Dräger, Lübeck, Deutschland) druckkontrolliert ventiliert mit dem Ziel einer endtidalen CO₂-Konzentration von 40 mmHg. Durch einen Multiparametermonitor (BSM-2301K, Nikon, Kohden, Tokio, Japan) fand eine Narkoseüberwachung per Elektrokardiogramm, Pulsoximetrie, Kapnographie, nicht-invasiver Blutdruckmessung und ösophagealer Körpertemperatur statt. Ein Absinken der Herzfrequenz unter 100 Schläge pro Minute wurde mit 0,01 mg/kg Glykopyrrolat (Robinul, Riemser, Greifswald, Deutschland) behandelt. Bei Hypotension mit einem mittleren arteriellen Blutdruck unter 60 mmHg erhielten die Katzen einen Dopamindauertropf (Dopamin Fresenius, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) mit einer Startdosis von 5 µg/kg/min, welche bis zu 10 µg/kg/min gesteigert wurde, wenn die niedrige Dosis ohne Effekt blieb. Die Katzen wurden während der Narkose zugedeckt und mit einem Bair Hugger (Bair Hugger, modell 505, Arizant healthcare, Edeon Prairie, Minnesota, USA) gewärmt. Bei den 13 Katzen wurden insgesamt 66 Anästhesien durchgeführt. Bei neun Anästhesien war zu mindestens einem der beiden Urinentnahmezeitpunkten kein Urin zu gewinnen. Daher wurden 57 Anästhesiesitzungen in die Auswertung einbezogen.

2. Probengewinnung und Urinanalyse

Die Urinproben wurden vor und vier Stunden nach Anästhesiebeginn per Zystozentese (ultraschallkontrolliert, 5 ml Spritze, 22 Gauge) gewonnen. Das Urin-spezifische Gewicht wurde per veterinärmedizinischem Refraktometer (VET 360, Reichert, Depew, New York, USA) bestimmt. Um Anzeichen einer akuten Nierenschädigung wie Proteinurie oder Glukosurie aufzudecken wurde eine

Urinuntersuchung per Urinteststreifen (Combur 9 Test, Roche, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Das Urinsediment wurde nach Zentrifugation (5 Minuten bei 2000 x g, Universal 320 R, Hettich, Tuttlingen, Deutschland) beurteilt. Bis zur RBP-Messung wurde der Überstand (1 ml) bei -80°C aufbewahrt.

3. Analyse des Retinol-binding Proteins

Für die Quantifizierung des RBP wurde ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Retinol-binding protein (RBP)/RBP4 ELISA Kit, immundiagnostik, Bensheim, Deutschland) verwendet. Dieser ELISA wurde für Katzen in einer Studie von VAN HOEK und Mitarbeitern (2008) validiert. (VAN HOEK et al., 2008) In einem ersten Schritt wird RBP an einer mit polyklonalen Kaninchen-antiRBP-Antikörpern beschichteten Platte gebunden. Im nächsten Schritt werden mit Peroxidase konjugierte antiRBP-Antikörper und als Substrat Tetramethylbenzidin verwendet, um RBP nachzuweisen und zu quantifizieren. Die Werte wurden als Doppelwerte auf der Mikrotiterplatte gemessen und der Mittelwert bestimmt:

Vor der Messung wurde der Urin 1:10 mit dem Probenverdünnungspuffer des Testkits verdünnt. Nach fünfmaligem Waschen der Mikrotiterplatte mit je 250 µl Waschpuffer und Ausschlagen auf Saugpapier nach dem letzten Waschgang wurden je 100 µl der Standardlösungen (0; 1,1; 3,3; 11; 33 µg/l RBP), der Kontrollen und der vorverdünnten Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert. Dann folgte die Inkubation bei Raumtemperatur für eine Stunde unter Schütteln auf einem horizontalen Mixer. Nach Verwerfung des Inhalts und erneuter fünfmaliger Waschung mit je 250 µl Waschpuffer wurden in jede Vertiefung 100 µl des verdünnten Konjugats (Kaninchen antiRBP/RBP4 Antikörper, Peroxidase-markiert) pipettiert. Danach erfolgte wieder eine Inkubation für eine Stunde bei Raumtemperatur unter Schütteln auf einem horizontalen Mixer. Daraufhin wurde der Inhalt der Platte verworfen und nach erneuter Waschung wurden pro Vertiefung 100 µl Tetramethylbenzidin pipettiert und für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden pro Vertiefung 50 µl der gebrauchsfertigen ELISA Stopplösung (verdünnte Schwefelsäure) pro Vertiefung hinzugefügt und die Extinktion umgehend mit einem Mikrotiterplattenphotometer (ELISA-reader Synergy HT, BioTek,

Winooski, Vermont, USA) bei einer Wellenlänge von 450 nm gegen 620 nm als Referenz gemessen. Aufgrund der Testsensitivität von 1,37 µg/l, welche von HOEK und Mitarbeiter für den in dieser Studie verwendeten ELISA festgestellt wurde, wurden alle RBP-Werte unter 1,37 µg/l auf 1,36 µg/l gesetzt. Infolge der Varianz des Urinspezifischen Gewichts und der Urinkreatininkonzentrationen wurde uRBP ins Verhältnis zur Kreatininkonzentration des Urins (c) gesetzt (uRBP/c) um die Werte vor und nach Anästhesie zu vergleichen.

4. Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mit einem kommerziellen Softwareprogramm für Statistik (Graph Pad Prism 5, GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA) durchgeführt. Auf Normalverteilung wurde mit dem D'Agostino & Pearson omnibus normality-Test geprüft. Normalverteilte Daten wurden als Mean ± Standardabweichung dargestellt und mit dem gepaarten T-Test (Serumkreatinin, pH-Wert des Urins, Urinkreatinin) bzw. ungepaarten T-Test analysiert. Nicht normalverteilte Daten wurden als Medianwert und Range (minimal-maximal) angegeben. Sie wurden mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für zusammengehörige Paare (USG, Urinprotein, Erythrozyten im Urin, uRBP, uRBP/c) bzw. dem Kruskal-Wallis-Test (uRBP/c im Sitzungsvergleich, Differenz uRBP/c in Bezug auf TSL-D-Dosis) analysiert.

IV. ERGEBNISSE

1. Serumkreatininwerte und Urinanalyse

Die Serumkreatininwerte ($103,6 \pm 22,87 \mu\text{mol/l}$) lagen bei allen 13 Katzen zu jedem Messzeitpunkt im Referenzbereich ($56 - 162 \mu\text{mol/l}$). Es bestand kein signifikanter Unterschied der Serumkreatininwerte vor der ersten Therapiesitzung im Vergleich zu den Serumkreatininwerten vor den jeweiligen folgenden Sitzungen ($p = 0,589$). Bei 57 Anästhesien wurde vor und vier Stunden nach Anästhesiebeginn eine Urinuntersuchung mit Messung des USG, Urinteststreifen und Sedimentanalyse durchgeführt. Das USG lag vor den Anästhesien bei einem Medianwert von 1030 ($1006 - 1055$) und sank nach der Anästhesie signifikant auf 1020 ($1009 - 1048$; $p < 0,0001$) ab. Der Proteingehalt laut Urinteststreifen lag vor der Anästhesie bei 1+ ($0+ - 3+$) und nach der Anästhesie bei 1+ ($0+ - 2+$; $p = 0,546$). Eine Katze wies vor und drei Katzen nach der Anästhesie 1 - 2+ Glukose im Urin auf. Es liegen von diesen Zeitpunkten keine Blutglukosekonzentrationen vor. Der pH-Wert des Urins lag laut Urinteststreifen vor den Anästhesien bei $6,76 \pm 1,01$ und danach bei $6,84 \pm 1,04$ ($p = 0,469$). Vor der Anästhesie hatten 29 Katzen 1 - 5, eine Katze 5 - 20, sechs Katzen 20 - 100 und drei Katzen > 100 Erythrozyten pro Gesichtsfeld im Urin. Nach der Anästhesie waren bei 20 Katzen 1 - 5, bei drei Katzen 5 - 20, bei 14 Katzen 20 - 100 und bei acht Katzen > 100 Erythrozyten pro Gesichtsfeld im Urin zu finden. Insgesamt waren nach der Anästhesie signifikant mehr Erythrozyten im Urin vorhanden ($p < 0,0001$). Vor und nach den Anästhesien hatten jeweils 29 Katzen 1 - 5 und 2 Katzen 5 - 20 Leukozyten pro Gesichtsfeld im Urin. Die Urinkreatininwerte vor der Anästhesie lagen im Mittel bei $2,015 \pm 1,5 \text{ g/l}$ und vier Stunden nach Anästhesiebeginn bei $1,162 \pm 0,83 \text{ g/l}$ ($p < 0,0001$). Die Urinkreatininwerte waren bei elf Sitzungen angestiegen und bei 46 abgefallen. Die Differenz (post-prä) der Urinkreatininwerte lag bei median $-0,503 \text{ g/l}$ ($- 4,375 - 0,852 \text{ g/l}$) (Tabelle 1).

2. Retinol-binding Protein

Die absoluten uRBP-Werte vor Anästhesie (prä uRBP) lagen bei median 1,36 µg/l (1,36 - 20,86 µg/l) und unterschieden sich nicht signifikant von den uRBP-Werten nach der Anästhesie (post uRBP) (median 1,36 µg/l; 1,36 - 20,41 µg/l; $p = 0,107$; Tabelle 1). Bei 21 Anästhesien fiel das uRBP ab, bei 22 blieb es gleich, und bei 14 stieg es an. Die mediane Differenz der post uRBP – prä uRBP-Werte betrug -0,22 µg/l (-6,17 - 10,42 µg/l). Die präanästhetische uRBP/c-Ratio von median 1,61 µg/g (0,23 - 48,17 µg/g) stieg nach der Anästhesie signifikant auf median 2,26 µg/g (0,39 - 59,14 µg/g) an ($p = 0,001$; Abbildung 1). Die uRBP/c-Ratio fiel bei 16 Anästhesien ab und stieg bei 41 an. Die Differenz der Ratios (post uRBP/c – prä uRBP/c) lag bei median 0,53 µg/g (-3,48 µg/g - 10,98 µg/g).

Tabelle 1: Urinspezifisches Gewicht, Urinkreatininkonzentrationen, Retinol-binding Protein-Konzentrationen und Retinol-binding Protein/Kreatinin-Ratios im Urin bei 13 Katzen und insgesamt 57 Anästhesien vor (prä) und vier Stunden (post) nach Anästhesiebeginn. (USG = Urinspezifisches Gewicht; RBP= Retinol-binding Protein; c, Krea= Kreatinin; u= urinary; Diff = Differenz post -prä)

	Medianwert	Range
USG prä	1030	1006 - 1055
USG post	1020	1009 - 1048
Diff uKrea g/l	-0,503	-4,375 - 0,852
uRBP prä µg/l	1,36	1,36 - 20,86
uRBP post µg/l	1,36	1,36 - 20,41
Diff uRBP µg/l	-0,22	- 6,17 - 10,42
uRBP/c prä µg/g	1,61	0,23 - 48,17
uRBP/c post µg/g	2,26	0,39 - 59,14
Diff uRBP/c µg/g	0,53	-3,48 - 10,98

	Mittelwert	Standardabweichung
Serumkreatinin µmol/l	103,6	± 22,87
uKrea prä g/l	2,015	± 1,5
post g/l	1,162	± 0,83
Urin pH-Wert prä	6,76	± 1,01
post	6,84	± 1,04

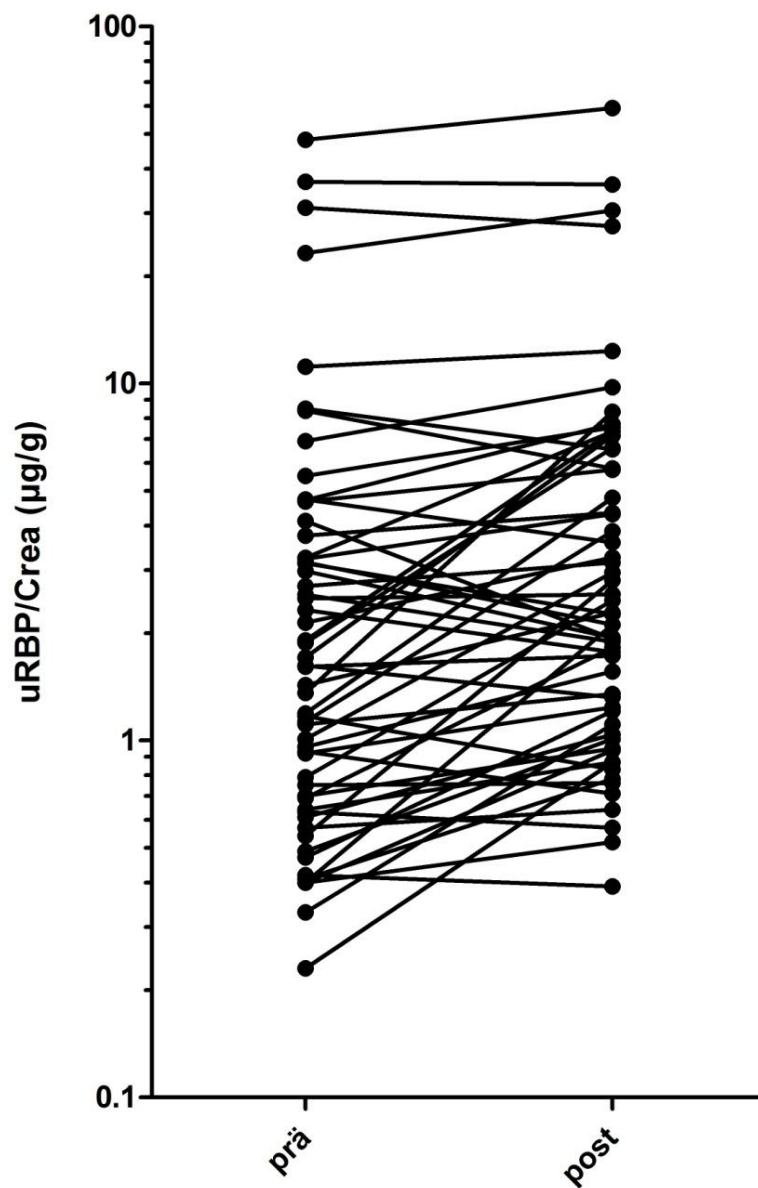


Abbildung 1: Retinol-binding Protein/Kreatinin-Ratios im Urin vor (prä) und vier (post) Stunden nach Anästhesieeinleitung bei 13 Katzen mit insgesamt 57 Anästhesien (RBP= Retinol-binding Protein; crea= Kreatinin; u= urinary)

3. Veränderungen zwischen den Anästhesiesitzungen

Es gab keine offensichtliche Entwicklung im Sinne eines Anstiegs der uRBP/c-Ratios von Anästhesie zu Anästhesie. Erhöhte postanästhetische uRBP/c-Werte erholten sich meist bis zur nächsten Sitzung. Es gab nur eine Katze (Katze IX) bei der ab der dritten Anästhesie die prä uRBP/c-Ratios von Anästhesie zu Anästhesie anstiegen und sich die post uRBP/c-Werte nicht innerhalb der zweiwöchigen Pause erholten. Jedoch kam es interessanterweise bei der vorletzten Anästhesie zu keinem Anstieg der uRBP/c Ratio während der Narkose, aber zu einem Anstieg innerhalb der zwei Wochen bis zur letzten Sitzung. Die Katze IX war auch die Katze mit den höchsten uRBP-Werten. Auch die Serumkreatininwerte stiegen bei dieser Katze von 110 $\mu\text{mol/l}$ vor der dritten Anästhesie, 122 $\mu\text{mol/l}$ vor der vierten, bis hin zu 154 $\mu\text{mol/l}$ vor der sechsten, blieben aber innerhalb des Referenzbereichs. Auch bei den anderen Katzen blieben die Serumkreatininwerte innerhalb des Referenzbereichs, zudem war bei ihnen keine Tendenz eines Absinkens oder Ansteigens der Werte zu beobachten. Bei der Analyse der uRBP/c-Ratios im Sitzungsvergleich war zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zu finden ($p = 0,996$). Ein Friedmann-Test war aufgrund der fehlenden Werte nicht möglich.

4. Einfluss des Blutdrucks

Es konnte kein signifikanter Einfluss des Blutdrucks während der Anästhesie auf die RBP-Werte gezeigt werden. Die Differenz der uRBP/c-Ratios (post uRBP/c – prä uRBP/c) lag für Anästhesien bei denen ein minimaler mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) ≤ 50 mmHg während der Narkose auftrat bei median 0,32 $\mu\text{g/g}$ (-3,48 $\mu\text{g/g}$ bis 7,32 $\mu\text{g/g}$) und für Anästhesien mit einem MAP > 50 mmHg bei median -0,62 $\mu\text{g/g}$ (-2,61 $\mu\text{g/g}$ – 10,98 $\mu\text{g/g}$, $p = 0,16$). In der linearen Regressionsanalyse ist ein geringer Einfluss in Form tendenziell höherer Differenzen der uRBP/c-Werte (post uRBP/c-prä uRBP/c) bei niedrigeren minimalen Blutdrücken zu sehen (Abbildung 2).

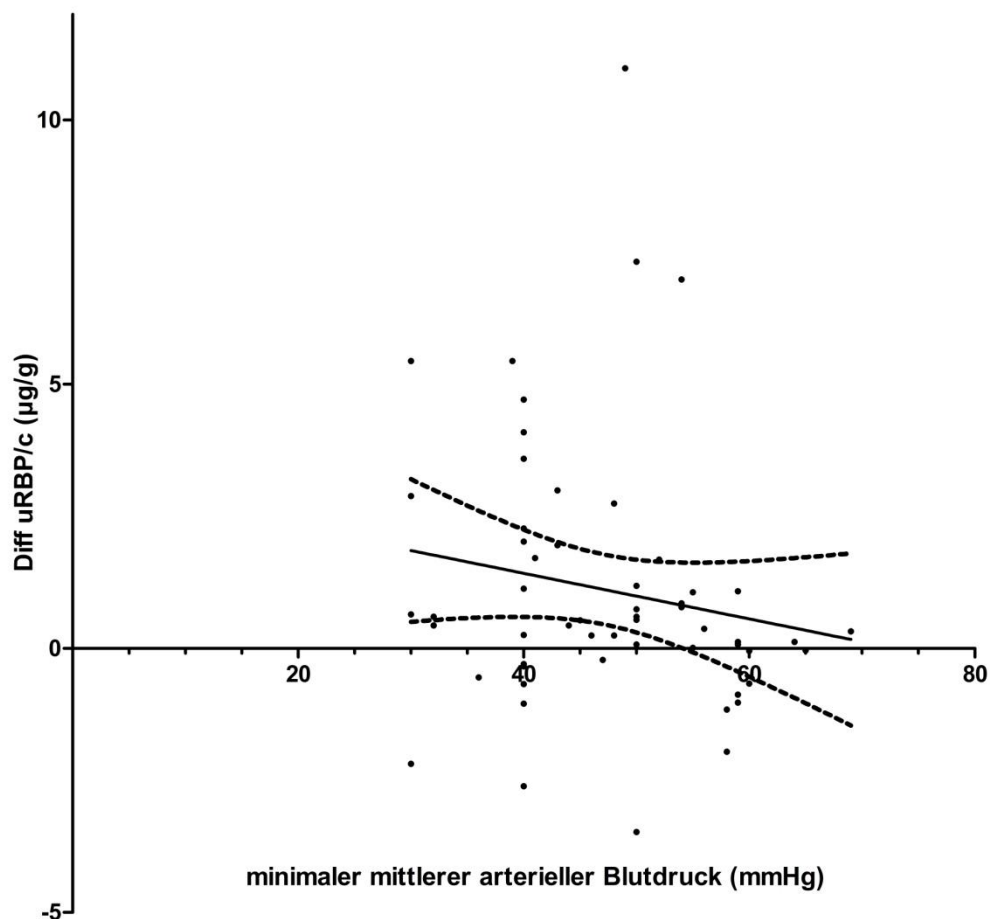


Abbildung 2: Lineare Regressionsanalyse von Diff uRBP/c zu minimalem arteriellen Blutdruck (u = urinary; RBP = Retinol-binding Protein; c = Kreatinin; Diff = Differenz post uRBP/c-prä uRBP/c)

5. Einfluss von Doxorubicin

Die verschiedenen Doxorubicindosierungen hatten sowohl nach linearer Regressionsanalyse als auch im Vergleich der Dosisgruppen keinen statistisch signifikanten Einfluss ($p = 0,37325$) auf die Differenz der uRBP/c-Werte (Abbildung 3).

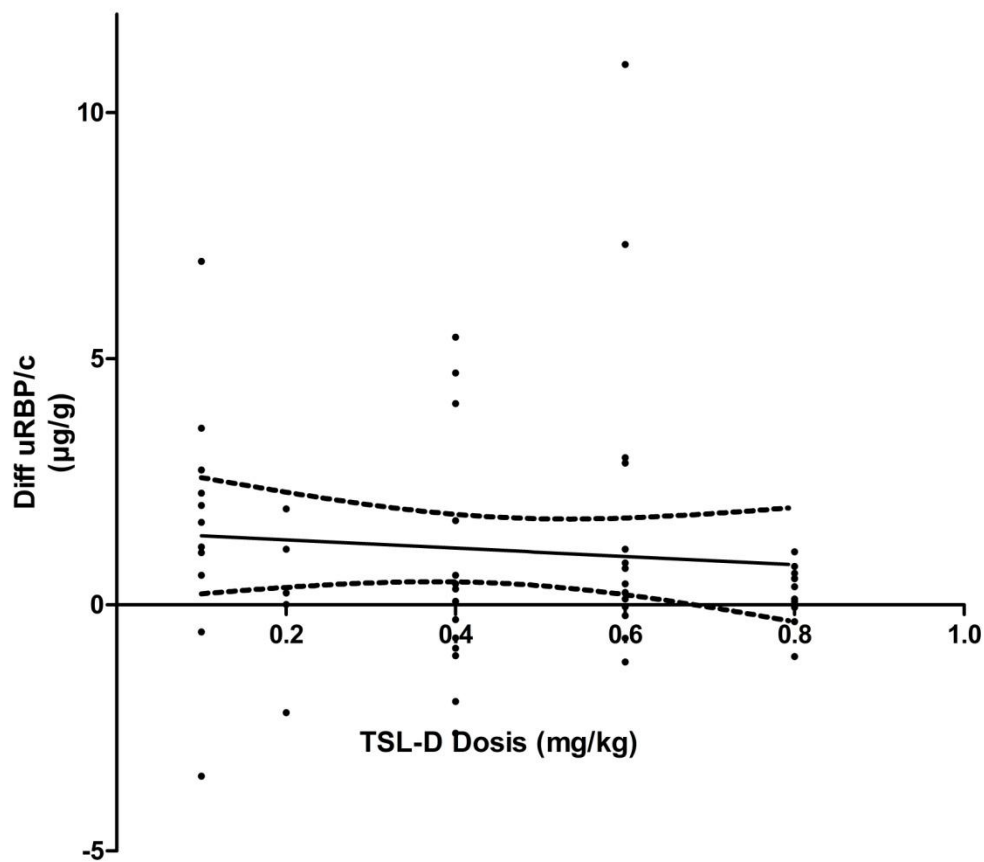


Abbildung 3: Lineare Regressionsanalyse von Diff uRBP/c zur TSL-D-Dosis (u = urinary; RBP = Retinol-binding Protein; c = Kreatinin; Diff = Differenz post uRBP/c-prä uRBP/c)

6. Weitere Variablen

Keine andere Variable wie die Dauer der Anästhesie, das Geschlecht oder Alter der Katzen hatte statistisch signifikanten Einfluss auf die RBP-Werte oder die Differenzen von uRBP/c vor und nach der Anästhesie.

V. DISKUSSION

In dieser Studie, welche mit 13 Katzen und insgesamt 57 Anästhesien durchgeführt wurde, wurde der Einfluss von Anästhesien auf die Integrität der Nierentubuli evaluiert. Weiter wurde untersucht, ob ein Einfluss von Doxorubicin auf die Nieren festzustellen ist. Für beide Fragestellungen wurde das uRBP als Biomarker verwendet.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die uRBP-Werte während der Anästhesie signifikant anstiegen. Bei 41 der Anästhesien kam es zu einem Anstieg der uRBP/c-Werte, bei 16 zu einem Abfall. Die uRBP/c-Werte vor Anästhesie wiesen einen Medianwert von 1,61 µg/g (0,23 – 48,17 µg/g) auf, die Werte vier Stunden nach Anästhesieeinleitung einen Medianwert von 2,26 µg/g (0,39 µg/g – 59,14 µg/g). Der mediane Wert der Differenzen (post uRBP/c – prä uRBP/c) lag bei 0,53 µg/g (-3,48 µg/g - 10,98 µg/g). Bis heute gibt es in der Veterinärmedizin keine anderen Studien, welche den direkten Einfluss von Anästhesien auf die Nierenfunktion anhand von uRBP beurteilten, sodass keine Vergleichswerte vorliegen. VAN HOEK und Mitarbeiter (2008) untersuchten uRBP bei gesunden Katzen, Katzen mit CNS, sowie Katzen mit Schilddrüsenüberfunktion und wiesen eine Testsensitivität für den ELISA, welcher auch in dieser Studie verwendet wurde, für uRBP von 1,37 µg/l nach. (VAN HOEK et al., 2008) Bei den gesunden Katzen lagen die uRBP-Werte unter der Testsensitivität von 1,37 µg/l, so dass keine genauen uRBP-Werte bestimmt wurden. Bei den Katzen mit CNS (International Renal Interest Society Stadium II oder höher) variierten die Werte zwischen 1,9 µg/l und 23 µg/l, wobei eine Katze Werte unterhalb der Testsensitivität aufwies. Die uRBP/c-Ratios reichten bei den Katzen mit CNS von 2 µg/g bis 43 µg/g.

In dieser Studie wurden alle gemessenen RBP-Werte gewertet. Wenn sie unter der von van Hoek beschriebenen Grenze von 1,37 µg/l lagen, wurden sie für die statistische Analyse 1,36 µg/l gleichgesetzt. Ein Vergleich der beiden Studien zeigt, dass in beiden Studien eine weite Streuung der Werte auffällig ist. Interessanterweise sind in dieser Studie die Werte teilweise höher als bei Katzen aus der Studie von van Hoek, welche unter CNS litten. Keine Katze dieser Studie zeigte jedoch zu irgendeinem Zeitpunkt Hinweise für eine ANS oder CNS, weder

eine Azotämie noch klinische Symptome. Auch bei Hunden mit CNS konnten durch RAILA und Mitarbeiter (2003) erhöhte uRBP/c-Werte im Vergleich zu gesunden Hunden nachgewiesen werden. Ebenso beschrieben SMETS und Mitarbeiter (2010) bei Hunden, die unter CNS litten signifikant erhöhte uRBP/c-Werte. (SMETS et al., 2010) MADDENS und Mitarbeiter (2011) untersuchten uRBP/c bei Hunden, welche an einer Pyometra mit einer begleitenden ANS erkrankt waren, und konnten erhöhte Werte nachweisen, allerdings nicht in demselben Ausmaß wie Hunde mit CNS aus der Studie von Smets. (MADDENS et al., 2011)

In dieser Studie konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem Anstieg der uRBP/c-Werte sowie einer während der Anästhesie auftretenden Hypotension nachgewiesen werden, allerdings war eine Tendenz für geringere Differenzen auffällig, wenn der MAP während der gesamten Narkosedauer 50 mmHg nicht unterschritt. Dass der Blutdruck während der Anästhesie eine entscheidende Rolle für den Erhalt der Nierenfunktion spielt, konnte in der Humanmedizin in vielen Studien gezeigt werden. So kommt es insbesondere in der Chirurgie am offenen Herzen immer wieder zu ANS. ARONSON und Mitarbeiter (2013) wiesen einen Zusammenhang zwischen dem Abfall des intraoperativen systolischen Blutdrucks im Vergleich zu einem Basiswert und damit verbundener postoperativer ANS nach. (ARONSON et al., 2013) Auch BADIN und Mitarbeiter (2011) konnten einen Zusammenhang zwischen hypotensiv bedingtem renalem Schaden und der Entwicklung einer ANS nachweisen. So war der mittlere arterielle Blutdruck nach dem schädigenden Einfluss entscheidend ob sich eine ANS entwickelte oder nicht. (BADIN et al., 2011) Auch in der Veterinärmedizin sind ANS durch Anästhesie-bedingte Hypotension beschrieben. (GRAUER, 1996) Zu einer Hypotension während der Narkose kommt es bei 8,5 % der anästhesierten Katzen. (GAYNOR et al., 1999) Auch in dieser Studie kam es immer wieder bei den Anästhesien zu Hypotension, die jedoch meist innerhalb von fünf Minuten korrigiert werden konnten. Interessanterweise kam es bei Katze VIII während einer Anästhesie zu einer 30 Minuten andauernden Hypotension mit einem $\text{MAP} \leq 50 \text{ mmHg}$ und bei dieser Anästhesie stieg das uRBP/c um 31-fache an. Da dies die letzte Narkose dieser Katze war, liegen keine weiteren uRBP-Werte vor. Jedoch schien dieses Ereignis keine offensichtlichen Folgen für die Nieren dieser Katze zu haben. Auch ein Jahr später waren die Serumkreatininwerte bei dieser

Katze im Referenzbereich und es gab keine klinischen Anzeichen für Nierenschädigungen bei dieser Katze. Ob es natürlich im Alter dieser Katze vielleicht eher zu einem Nierenleiden kommt ist nicht vorherzusagen. Doch auch generell kann man zur Bedeutung der ansteigenden uRBP/c-Werte sagen, dass es langfristig keinen Einfluss auf die Nieren zu haben scheint, sondern sie eher einem reversiblen Geschehen, bedingt durch einen transienten Funktionsverlust der Nierentubuli, zuzuschreiben sind. So kommt es zwar durch die Anästhesie zu einem signifikanten Anstieg der uRBP/c-Werte, jedoch konnte keine langfristige Konsequenz beobachtet werden. Bei nahezu allen Katzen erholten sich die post Anästhesie uRBP/c-Werte innerhalb der zwei Wochen bis zur folgenden Anästhesie. Nur bei Katze IX kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg zwischen den letzten drei Anästhesien. Doch auch einige Wochen nach Beendigung war das Serumkreatinin bei dieser Katze mit $137 \mu\text{mol/l}$ immer noch im Referenzbereich und hatte sich im Vergleich zur letzten Anästhesie mit $154 \mu\text{mol/l}$ sogar wieder verringert. Die Aussagen dieser Studie stimmen mit den Entdeckungen einer Studie aus der Humanmedizin von BERNARD und Mitarbeitern (1987) überein, wo gezeigt werden konnte, dass ein Anstieg der uRBP-Werte aufgrund von Medikamenten oder Toxinen einen vorübergehenden Funktionsverlust der Nierentubuli aufzeigt und sich diese nach Expositionsstop und einem milden Schaden wieder erholen. So ist davon auszugehen, dass die Nierentubuli ihre Fähigkeit das RBP zu reabsorbieren und abzutransportieren transient verlieren, jedoch bei Beseitigung des schädigenden Einflusses in der Lage sind sich zu regenerieren; immer natürlich vorausgesetzt, dass kein zu starker Schaden der Nieren durch den Insult entstanden ist. (BERNARD et al., 1987) O'KEEFE und Mitarbeiter (1993) konnten bei Katzen histologisch nachweisen, dass es nach einem nierenschädigenden Einfluss zu einer tubulären Regeneration mit großen, das Tubulusslumen auskleidenden Zellen, kommt. (O'KEEFE et al., 1993)

Die zweite Feststellung war, dass anhand von RBP keine Nephrotoxizität von Doxorubicin nachgewiesen werden konnte. O'KEEFE und Mitarbeiter (1993) beschrieben in einer Studie mit sechs Katzen eine Nephrotoxizität von Doxorubicin. Die Katzen erhielten Doxorubicin intravenös in einer Dosierung von 30 mg/m^2 alle 21 Tage bis zu einer kumulativen Dosis von 300 mg/m^2 BSA. Hierbei waren bei der Autopsie vor allem in der inneren Nierenrinde eine milde bis moderate Verdickung des Mesangiums, vereinzelt Nekrosen der

Tubuluszellen, aber auch Regeneration zu erkennen. Drei der sechs Katzen wiesen eine milde bis moderate nichteitrig interstitielle Nephritis auf und zwei Katzen hatten Proteinzyylinder in den Tubuli. Interessanterweise hatten drei Katzen Serumkreatininwerte innerhalb des Referenzbereichs und bei keiner Katze konnten Abweichungen in der Urinanalyse bis auf ein Absinken des USG nachgewiesen werden. (O'KEEFE et al., 1993) Auch in dieser Studie konnten keine Abweichungen in der Urinanalyse bis auf mehr Erythrozyten nach der Anästhesie festgestellt werden und, wie oben bereits erwähnt, waren die Serumkreatininwerte immer im Referenzbereich. Im Hinblick auf die histologischen Veränderungen der Nieren, welche in der Studie von O'Keefe nachgewiesen wurden, jedoch ohne einen gleichzeitigen Anstieg des Serumkreatinins, sollte die Aussagekraft des Serumkreatinins kritisch betrachtet werden, da der Anstieg erst erfolgt, wenn eine fortgeschrittene Nierenschädigung vorliegt. (ADIYANTI und LOHO, 2012) Das USG war in dieser Studie aufgrund der Infusion oft sehr niedrig und hat demnach keinen Aussagewert. Zwischen den einzelnen Doxorubicindosierungen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Auch der Nachweis einer kumulativen Schädigung anhand von RBP lag nicht vor. Möglicherweise waren alle Doxorubicindosierungen zu niedrig, um eine Nierenschädigung hervorzurufen, oder das in Liposomen verpackte Doxorubicin schont die Nieren, da die höchsten Dosen im erwärmten Tumor vorliegen. Letztlich wäre es auch möglich, dass eine Schädigung der Nieren durch Doxorubicin anhand von RBP allein nicht aufgezeigt werden kann, und andere Biomarker oder der histologische Nachweis erforderlich sind. Jedoch muss berücksichtigt werden, dass die in der Studie von O'Keefe beschriebene Nephrotoxizität erst mit hohen kumulativen Dosen und Verzögerung eintrat. (O'KEEFE et al., 1993)

Auch bei anderen Variablen wie Anästhesiedauer, Dopaminverabreichung, Geschlecht, Alter oder Gewicht konnte kein signifikanter Einfluss auf uRBP/c nachgewiesen werden.

Die Limitationen dieser Studie sind, dass nicht alle Katzen sieben Anästhesien hatten, da manche Katzen die Studie frühzeitig aufgrund einer Tumorprogression oder einer Verschlechterung des allgemeinen Gesundheitszustands abbrechen mussten oder die weitere Compliance der Besitzer nicht mehr gegeben war. Weiter war bei manchen Katzen nicht immer Urin zu gewinnen, da dies bei

einzelnen Katzen im wachen Zustand nicht möglich war. Zudem kann zum morphologischen und histologischen Zustand der Nieren keine Aussage getroffen werden, da diese Untersuchungen nicht durchgeführt wurden. Somit konnte kein eventueller Zusammenhang zwischen erhöhten uRBP-Werten und histologischen Veränderungen der Nieren untersucht werden. Eine weitere Limitation ist, dass einige der uRBP-Werte unter der Testsensitivität des ELISA lagen und entsprechend angepasst werden mussten.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es durch Anästhesien zu einem signifikanten Anstieg des uRBP/c kommt, dieser jedoch nur transient ist, und es somit keinen nachhaltigen negativen Effekt auf die Nieren durch Anästhesien zu geben scheint. Eine Nephrotoxizität von Doxorubicin konnte anhand von uRBP nicht festgestellt werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In diese Studie wurden 13 Katzen eingeschlossen, welche insgesamt 57 Anästhesien durchliefen. Die Katzen litten an einem inoperablen Fibrosarkom und waren Teil einer weiteren Studie, in der die Wirksamkeit von in Liposomen verkapseltem, intravenös verabreichtem, Doxorubicin unter lokaler Hyperthermie gegen das Fibrosarkom untersucht wurde, wofür die Katzen in Narkose gelegt werden mussten. Die Anästhesien, welche mit Methadon und Alfaxan eingeleitet und mit Isofluran aufrechterhalten wurden, fanden alle zwei Wochen statt mit zwei bis sieben Sitzungen pro Katze. Vor jeder Anästhesie und vier Stunden nach Anästhesiebeginn wurde den Katzen per Zystozentese Urin entnommen, die Konzentration von Retinol-binding Protein mithilfe eines Enzyme Linked Immunosorbent Assays ermittelt und die Konzentration des Kreatinins im Urin bestimmt. Das Verhältnis Retinol-binding Protein zu Kreatinin wurde ermittelt. Retinol-binding Protein ist ein low molecular weight protein und dient als Biomarker für die Integrität der Nierentubuli. So wird das Retinol-binding Protein in den Glomerula frei filtriert und unter physiologischen Bedingungen in den Nierentubuli nahezu vollständig rückresorbiert. Bei einem Funktionsverlust der Nierentubuli kommt es zu erhöhten Konzentrationen des Retinol-binding Proteins im Urin. In dieser Studie wurde untersucht, ob es durch Anästhesien zu einer vermehrten Ausscheidung des Biomarkers Retinol-binding Protein im Urin kommt. Weiter sollte der Einfluss von Doxorubicin auf die Nierentubuli anhand der Ausscheidung des Retinol-binding Proteins evaluiert werden.

Es konnte ein signifikanter Anstieg der Retinol-binding Protein/ Kreatinin-Werte im Urin nachgewiesen werden. So stiegen diese bei 41 Anästhesien an, bei 16 fielen sie ab. Es konnte keine signifikante Korrelation zum Blutdruck festgestellt werden. Tendenziell war aber zu erkennen, dass ein niedriger mittlerer arterieller Blutdruck von unter 50 mmHg während der Anästhesie eher zu einem Anstieg der Retinol-binding Protein/Kreatinin-Werte im Urin führt. Keine sonstige Variable wie Anästhesiedauer, Doxorubicindosierung, Dopaminapplikation, Alter oder Geschlecht der Katzen hatte einen Einfluss auf die Retinol-binding Protein/Kreatinin-Werte im Urin. Zwischen den einzelnen Sitzungen erholten sich

die angestiegenen Retinol-binding Protein/Kreatinin-Werte wieder, so dass auch nach zwölf Wochen kein nachteiliger Effekt auf die Integrität der Nierentubuli nachgewiesen werden konnte. Alle Katzen wiesen vor jeder Anästhesie Serumkreatininwerte innerhalb des Referenzbereichs auf.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es zwar zu einem signifikanten Anstieg der Konzentrationen von Retinol-binding Protein nach Anästhesien bei Katzen kommt. Jedoch ist dieser Funktionsverlust der Nierentubuli als vorübergehend zu werten.

VII. SUMMARY

Thirteen cats were included in this study with 57 anesthesia overall. The cats were suffering from an inoperable fibrosarcoma and were part of another study in which the influence of local hyperthermia and intravenously administered doxorubicin encapsulated in liposomes on fibrosarcoma was studied. The cats were anaesthetised every second week and each cat received 2 – 7 treatments. Anesthesia was induced with methadone and alfaxalone and maintained with isoflurane. Urine was collected by cystocentesis before and four hours after induction of anaesthesia. Urinary retinol-binding protein was measured with an enzyme-linked immunosorbent assay and related to urinary creatinine. Retinol-binding protein is a low molecular weight protein and a biomarker for the integrity of renal tubules. Under physiological conditions it is almost totally reabsorbed by the renal tubules after filtration through the glomeruli. The aim of this study was to find out if there can be seen any influence of anesthesia on the excretion of retinol-binding protein in urine. Further the influence of doxorubicin on the integrity of the renal tubules was evaluated by retinol-binding protein.

In this study a significant increase of the urinary retinol-binding protein/creatinine ratios could be shown. There was an increase in 41 cases, a decrease in 16. No correlation with the blood pressure could be demonstrated. But the urinary retinol-binding protein/creatinine ratios tended to increase more if a mean arterial blood pressure below 50 mmHg during anaesthesia occurred. No other variable like duration of anaesthesia, dosage of doxorubicin, administration of dopamine, age or gender showed a correlation with the urinary retinol-binding protein/creatinine ratios. Between the different treatments the increased urinary retinol-binding protein/creatinine ratios recovered and even after twelve weeks no negative effect on the integrity of the renal tubules could be detected. Every cat had levels of serum creatinine within the reference range measured before each anaesthesia.

In summary, it can be stated that there is a significant increase of urinary retinol-binding protein/creatinine ratios during anaesthesia in cats. But this functional loss of renal tubules can be seen as transient.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

- Abassi Z, Golomb E, Keiser HR. Neutral endopeptidase inhibition increases the urinary excretion and plasma levels of endothelin. *Metabolism* 1992; 41: 683-5.
- Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jensson O, Grubb A. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1990; 268: 287-94.
- Ad-hoc working group of E, Fliser D, Laville M, Covic A, Fouque D, Vanholder R, Juillard L, Van Biesen W. A European Renal Best Practice (ERBP) position statement on the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) clinical practice guidelines on acute kidney injury: part 1: definitions, conservative management and contrast-induced nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 4263-72.
- Adiyanti SS, Loho T. Acute Kidney Injury (AKI) biomarker. *Acta Med Indones* 2012; 44: 246-55.
- Akhtar AM, Schneider JE, Chapman SJ, Jefferson A, Digby JE, Mankia K, Chen Y, McAteer MA, Wood KJ, Choudhury RP. In vivo quantification of VCAM-1 expression in renal ischemia reperfusion injury using non-invasive magnetic resonance molecular imaging. *PLoS One* 2010; 5: e12800.
- Amengual J, Golczak M, Palczewski K, von Lintig J. Lecithin:retinol acyltransferase is critical for cellular uptake of vitamin A from serum retinol-binding protein. *J Biol Chem* 2012; 287: 24216-27.
- Anand AJ, Bashey B. Newer insights into cisplatin nephrotoxicity. *Ann Pharmacother* 1993; 27: 1519-25.
- Anderson RJ, Barry DW. Clinical and laboratory diagnosis of acute renal failure. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2004; 18: 1-20.
- Aronson S, Phillips-Bute B, Stafford-Smith M, Fontes M, Gaca J, Mathew JP, Newman MF. The association of postcardiac surgery acute kidney injury with intraoperative systolic blood pressure hypotension. *Anesthesiol Res Pract* 2013; 2013: 174091.
- Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Gomes WJ, Angelini GD. On-pump versus off-pump coronary revascularization: evaluation of renal function. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 493-8.
- Autio K, Rassnick KM, Goldstein RE, Erb HN. Microalbuminuria is not associated with cisplatin-induced azotemia in dogs. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 1198-202.
- Ayatse JO. Human retinol-binding protein: its relationship to renal function in renal diseases. *West Afr J Med* 1991; 10: 226-31.
- Badin J, Boulain T, Ehrmann S, Skarzynski M, Bretagnol A, Buret J, Benzekri-Lefevre D, Mercier E, Runge I, Garot D, Mathonnet A, Dequin PF, Perrotin D. Relation between mean arterial pressure and renal function in the early phase of shock: a prospective, explorative cohort study. *Crit Care* 2011; 15: R135.
- Bardi E, Bobok I, A VO, Kappelmayer J, Kiss C. Anthracycline antibiotics induce acute renal tubular toxicity in children with cancer. *Pathol Oncol Res* 2007; 13: 249-53.
- Basnakian AG, Apostolov EO, Yin X, Napirei M, Mannherz HG, Shah SV. Cisplatin nephrotoxicity is mediated by deoxyribonuclease I. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 697-702.
- Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Napodano P, Paparella M, D'Amico G. Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1890-6.
- Behrend EN, Grauer GF, Mani I, Groman RP, Salman MD, Greco DS. Hospital-acquired acute renal failure in dogs: 29 cases (1983-1992). *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208: 537-41.

- Bellovino D, Morimoto T, Tosetti F, Gaetani S. Retinol binding protein and transthyretin are secreted as a complex formed in the endoplasmic reticulum in HepG2 human hepatocarcinoma cells. *Exp Cell Res* 1996; 222: 77-83.
- Bennett AJ, Reineke EL. Outcome following gastrointestinal tract decontamination and intravenous fluid diuresis in cats with known lily ingestion: 25 cases (2001-2010). *J Am Vet Med Assoc* 2013; 242: 1110-6.
- Bennett WM. Mechanisms of aminoglycoside nephrotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1989; 16: 1-6.
- Berggard I, Bearn AG. Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem* 1968; 243: 4095-103.
- Bernard AM, Lauwerys RR. Retinol binding protein in urine: a more practical index than urinary beta 2-microglobulin for the routine screening of renal tubular function. *Clin Chem* 1981; 27: 1781-2.
- Bernard AM, Vyskocil AA, Mahieu P, Lauwerys RR. Assessment of urinary retinol-binding protein as an index of proximal tubular injury. *Clin Chem* 1987; 33: 775-9.
- Bernier GM, Conrad ME. Catabolism of human beta-2-microglobulin by the rat kidney. *Am J Physiol* 1969; 217: 1359-62.
- Berry DC, Croniger CM, Ghyselinck NB, Noy N. Transthyretin blocks retinol uptake and cell signaling by the holo-retinol-binding protein receptor STRA6. *Mol Cell Biol* 2012a; 32: 3851-9.
- Berry DC, O'Byrne SM, Vreeland AC, Blaner WS, Noy N. Cross talk between signaling and vitamin A transport by the retinol-binding protein receptor STRA6. *Mol Cell Biol* 2012b; 32: 3164-75.
- Bidwai AV, Stanley TH, Bloomer HA, Blatnick RA. Effects of anesthetic doses of morphine on renal function in the dog. *Anesth Analg* 1975; 54: 357-60.
- Blaikley J, Sutton P, Walter M, Lapsley M, Norden A, Pugsley W, Unwin R. Tubular proteinuria and enzymuria following open heart surgery. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1364-7.
- Blomhoff R, Green MH, Green JB, Berg T, Norum KR. Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport, and storage. *Physiol Rev* 1991; 71: 951-90.
- Blomhoff R. Transport and metabolism of vitamin A. *Nutr Rev* 1994; 52: S13-23.
- Bolignano D, Donato V, Coppolino G, Campo S, Buemi A, Lacquaniti A, Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. *Am J Kidney Dis* 2008; 52: 595-605.
- Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio MR, Nicocia G, Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 337-44.
- Bolignano D, Coppolino G, Lacquaniti A, Buemi M. From kidney to cardiovascular diseases: NGAL as a biomarker beyond the confines of nephrology. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 273-6.
- Bondiou MT, Bourbouze R, Bernard M, Percheron F, Perez-Gonzalez N, Cabezas JA. Inhibition of A and B N-acetyl-beta-D-glucosaminidase urinary isoenzymes by urea. *Clin Chim Acta* 1985; 149: 67-73.
- Bonventre JV. Mechanisms of ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 1993; 43: 1160-78.
- Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a specific and sensitive biomarker of kidney injury. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2008; 241: 78-83.
- Borregaard N, Sehested M, Nielsen BS, Sengelov H, Kjeldsen L. Biosynthesis of granule proteins in normal human bone marrow cells. Gelatinase is a marker of terminal neutrophil differentiation. *Blood* 1995; 85: 812-7.
- Bostrom I, Nyman G, Kampa N, Haggstrom J, Lord P. Effects of acepromazine on renal function in anesthetized dogs. *Am J Vet Res* 2003; 64: 590-8.
- Brady HR, Singer GG. Acute renal failure. *Lancet* 1995; 346: 1533-40.

- Brater DC. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on renal function: focus on cyclooxygenase-2-selective inhibition. *Am J Med* 1999; 107: 65S-70S; discussion S-1S.
- Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radic Res* 1999; 31: 577-96.
- Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 647-55.
- Brivet FG, Kleinknecht DJ, Loirat P, Landais PJ. Acute renal failure in intensive care units--causes, outcome, and prognostic factors of hospital mortality; a prospective, multicenter study. French Study Group on Acute Renal Failure. *Crit Care Med* 1996; 24: 192-8.
- Burri BJ, Neidlinger TR, Zwick H. Comparison of the properties and concentrations of the isoforms of retinol-binding protein in animals and human beings. *Am J Vet Res* 1993; 54: 1213-20.
- Camara NO, Matos AC, Rodrigues DA, Pereira AB, Pacheco-Silva A. Urinary retinol binding protein is a good marker of progressive cyclosporine nephrotoxicity after heart transplant. *Transplant Proc* 2001; 33: 2129-31.
- Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 1996; 10: 940-54.
- Chang JW, Tsai HL, Wang HH, Yang LY. Outcome and risk factors for mortality in children with acute renal failure. *Clin Nephrol* 2008; 70: 485-9.
- Che M, Xie B, Xue S, Dai H, Qian J, Ni Z, Axelsson J, Yan Y. Clinical usefulness of novel biomarkers for the detection of acute kidney injury following elective cardiac surgery. *Nephron Clin Pract* 2010; 115: c66-72.
- Chen HC, Sinclair MD, Dyson DH. Use of ephedrine and dopamine in dogs for the management of hypotension in routine clinical cases under isoflurane anesthesia. *Vet Anaesth Analg* 2007; 34: 301-11.
- Chinen R, Camara NO, Nishida S, Silva MS, Rodrigues DA, Pereira AB, Pacheco-Silva A. Determination of renal function in long-term heart transplant patients by measurement of urinary retinol-binding protein levels. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 1305-13.
- Chirino YI, Hernandez-Pando R, Pedraza-Chaverri J. Peroxynitrite decomposition catalyst ameliorates renal damage and protein nitration in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Pharmacol* 2004; 4: 20.
- Christensen EI, Gliemann J, Moestrup SK. Renal tubule gp330 is a calcium binding receptor for endocytic uptake of protein. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 1481-90.
- Christensen EI, Birn H, Verroust P, Moestrup SK. Membrane receptors for endocytosis in the renal proximal tubule. *Int Rev Cytol* 1998; 180: 237-84.
- Christensen EI, Moskaug JO, Vorum H, Jacobsen C, Gundersen TE, Nykjaer A, Blomhoff R, Willnow TE, Moestrup SK. Evidence for an essential role of megalin in transepithelial transport of retinol. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 685-95.
- Christensen EI, Birn H. Megalin and cubilin: synergistic endocytic receptors in renal proximal tubule. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280: F562-73.
- Chugh KS, Jha V, Sakhuja V, Joshi K. Acute renal cortical necrosis--a study of 113 patients. *Ren Fail* 1994; 16: 37-47.
- Cogan U, Kopelman M, Mokady S, Shinitzky M. Binding affinities of retinol and related compounds to retinol binding proteins. *Eur J Biochem* 1976; 65: 71-8.
- Crofford LJ. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions. *J Rheumatol Suppl* 1997; 49: 15-9.
- Cui S, Verroust PJ, Moestrup SK, Christensen EI. Megalin/gp330 mediates uptake of albumin in renal proximal tubule. *Am J Physiol* 1996; 271: F900-7.

- Czock D, Haussler U, Aymanns C, Keller F. [Nephrotoxic drugs]. *Dtsch Med Wochenschr* 2005; 130: 2579-84; quiz 85-6.
- D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12: 639-43.
- Daugaard G, Abildgaard U. Cisplatin nephrotoxicity. A review. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 25: 1-9.
- Davenpeck KL, Gauthier TW, Lefer AM. Inhibition of endothelial-derived nitric oxide promotes P-selectin expression and actions in the rat microcirculation. *Gastroenterology* 1994; 107: 1050-8.
- de Matos AC, Camara NO, de Oliveira AF, Franco MF, Moura LA, Nishida S, Pereira AB, Pacheco-Silva A. Functional and morphologic evaluation of kidney proximal tubuli and correlation with renal allograft prognosis. *Transpl Int* 2010; 23: 493-9.
- Dehne MG, Boldt J, Heise D, Sablotzki A, Hempelmann G. [Tamm-Horsfall protein, alpha-1- and beta-2-microglobulin as kidney function markers in heart surgery]. *Anaesthesist* 1995; 44: 545-51.
- Dial SM, Thrall MA, Hamar DW. Comparison of ethanol and 4-methylpyrazole as treatments for ethylene glycol intoxication in cats. *Am J Vet Res* 1994; 55: 1771-82.
- Dobson RL, Motlagh S, Quijano M, Cambron RT, Baker TR, Pullen AM, Regg BT, Bigalow-Kern AS, Vennard T, Fix A, Reimschuessel R, Overmann G, Shan Y, Daston GP. Identification and characterization of toxicity of contaminants in pet food leading to an outbreak of renal toxicity in cats and dogs. *Toxicol Sci* 2008; 106: 251-62.
- Donnahoo KK, Meng X, Ayala A, Cain MP, Harken AH, Meldrum DR. Early kidney TNF-alpha expression mediates neutrophil infiltration and injury after renal ischemia-reperfusion. *Am J Physiol* 1999; 277: R922-9.
- Egger C, McCrackin MA, Hofmeister E, Touzot-Jourde G, Rohrbach B. Efficacy of preanesthetic intramuscular administration of ephedrine for prevention of anesthesia-induced hypotension in cats and dogs. *Can Vet J* 2009; 50: 179-84.
- Eksioglu-Demiralp E, Kardas ER, Ozgul S, Yagci T, Bilgin H, Sehirli O, Ercan F, Sener G. Betulinic acid protects against ischemia/reperfusion-induced renal damage and inhibits leukocyte apoptosis. *Phytother Res* 2010; 24: 325-32.
- Ekstrom B, Berggard I. Human alpha1-microglobulin. Purification procedure, chemical and physicochemical properties. *J Biol Chem* 1977; 252: 8048-57.
- Esson ML, Schrier RW. Diagnosis and treatment of acute tubular necrosis. *Ann Intern Med* 2002; 137: 744-52.
- Ferguson MA, Vaidya VS, Bonventre JV. Biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury. *Toxicology* 2008; 245: 182-93.
- Fex G, Albertsson PA, Hansson B. Interaction between prealbumin and retinol-binding protein studied by affinity chromatography, gel filtration and two-phase partition. *Eur J Biochem* 1979; 99: 353-60.
- Forterre S, Raila J, Schweigert FJ. Protein profiling of urine from dogs with renal disease using ProteinChip analysis. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 271-7.
- Fouqueray B, Philippe C, Herbelin A, Perez J, Ardaillou R, Baud L. Cytokine formation within rat glomeruli during experimental endotoxemia. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3: 1783-91.
- Frey SK, Nagl B, Henze A, Raila J, Schlosser B, Berg T, Tepel M, Zidek W, Weickert MO, Pfeiffer AF, Schweigert FJ. Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic diseases of the kidney but not of the liver. *Lipids Health Dis* 2008; 7: 29.
- Friedericksen DV, Van der Merwe L, Hattingh TL, Nel DG, Moosa MR. Acute renal failure in the medical ICU still predictive of high mortality. *S Afr Med J* 2009; 99: 873-5.

- Fujii T, Takaoka M, Ohkita M, Matsumura Y. Tempol protects against ischemic acute renal failure by inhibiting renal noradrenaline overflow and endothelin-1 overproduction. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 641-5.
- Fujita H, Narita T, Morii T, Shimotomai T, Yoshioka N, Kakei M, Ito S. Increased urinary excretion of N-acetylglucosaminidase in subjects with impaired glucose tolerance. *Ren Fail* 2002; 24: 69-75.
- Fukata T, Imai N, Shibata S. Acute renal insufficiency in cats after fosfomycin administration. *Vet Rec* 2008; 163: 337-8.
- Futrakul N, Sridama V, Futrakul P. Microalbuminuria--a biomarker of renal microvascular disease. *Ren Fail* 2009; 31: 140-3.
- Gaetani S, Bellovino D, Aprea M, Devirgiliis C. Hepatic synthesis, maturation and complex formation between retinol-binding protein and transthyretin. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 1211-20.
- Gately DP, Howell SB. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. *Br J Cancer* 1993; 67: 1171-6.
- Gaynor JS, Dunlop CI, Wagner AE, Wertz EM, Golden AE, Demme WC. Complications and mortality associated with anesthesia in dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999; 35: 13-7.
- Gekle M. Renal tubule albumin transport. *Annu Rev Physiol* 2005; 67: 573-94.
- Giroir BP, Johnson JH, Brown T, Allen GL, Beutler B. The tissue distribution of tumor necrosis factor biosynthesis during endotoxemia. *J Clin Invest* 1992; 90: 693-8.
- Goodman DS, Raz A. Extraction and recombination studies of the interaction of retinol with human plasma retinol-binding protein. *J Lipid Res* 1972; 13: 338-47.
- Goodman DS. Vitamin A transport and retinol-binding protein metabolism. *Vitam Horm* 1974; 32: 167-80.
- Goodman DS. Retinol-binding protein, prealbumin, and vitamin A transport. *Prog Clin Biol Res* 1976; 5: 313-30.
- Goodman DS. Plasma retinol-binding protein. *Ann N Y Acad Sci* 1980; 348: 378-90.
- Gookin JL, Riviere JE, Gilger BC, Papich MG. Acute renal failure in four cats treated with paromomycin. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 215: 1821-3, 06.
- Grauer GF. Prevention of acute renal failure. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 1447-59.
- Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 1992; 38 Suppl 1: S20-7.
- Guder WG, Hofmann W. Clinical role of urinary low molecular weight proteins: their diagnostic and prognostic implications. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2008; 241: 95-8.
- Guz G, Demirogullari B, Ulusu NN, Dogu C, Demirtola A, Kavutcu M, Omeroglu S, Stefek M, Karasu C. Stobadine protects rat kidney against ischaemia/reperfusion injury. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 210-6.
- Gyselynck AM, Forrey A, Cutler R. Pharmacokinetics of gentamicin: distribution and plasma and renal clearance. *J Infect Dis* 1971; 124 Suppl: S70-6.
- Haase M, Bellomo R, Story D, Letis A, Klemz K, Matalanis G, Seevanayagam S, Dragun D, Seeliger E, Mertens PR, Haase-Fielitz A. Effect of mean arterial pressure, haemoglobin and blood transfusion during cardiopulmonary bypass on post-operative acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 153-60.
- Hadley RM, Richardson JA, Gwaltney-Brant SM. A retrospective study of daylily toxicosis in cats. *Vet Hum Toxicol* 2003; 45: 38-9.
- Harirforoosh S, Jamali F. Renal adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Expert Opin Drug Saf* 2009; 8: 669-81.
- Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *J Pharm Pharm Sci* 2013; 16: 821-47.

- Hartmann JT, Kollmannsberger C, Kanz L, Bokemeyer C. Platinum organ toxicity and possible prevention in patients with testicular cancer. *Int J Cancer* 1999; 83: 866-9.
- Hauck ML, LaRue SM, Petros WP, Poulson JM, Yu D, Spasojevic I, Pruitt AF, Klein A, Case B, Thrall DE, Needham D, Dewhirst MW. Phase I trial of doxorubicin-containing low temperature sensitive liposomes in spontaneous canine tumors. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4004-10.
- Hayman JM, Halsted JA, Seyler LE. A Comparison of the Creatinine and Urea Clearance Tests of Kidney Function. *J Clin Invest* 1933; 12: 861-75.
- Heller J, Horwitz J. Conformational changes following interaction between retinol isomers and human retinol-binding protein and between the retinol-binding protein and prealbumin. *J Biol Chem* 1973; 248: 6308-16.
- Heller J, Horwitz J. The binding stoichiometry of human plasma retinol-binding protein to prealbumin. *J Biol Chem* 1974; 249: 5933-8.
- Hemingway A. The elimination of xylose, creatinine and urea by the perfused mammalian kidney. *J Physiol* 1935; 84: 458-68.
- Henze A, Frey SK, Raila J, Scholze A, Spranger J, Weickert MO, Tepel M, Zidek W, Schweigert FJ. Alterations of retinol-binding protein 4 species in patients with different stages of chronic kidney disease and their relation to lipid parameters. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393: 79-83.
- Herget-Rosenthal S, Poppen D, Husing J, Marggraf G, Pietruck F, Jakob HG, Philipp T, Kribben A. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin Chem* 2004; 50: 552-8.
- Hodgson DS, Dunlop CI, Chapman PL, Grandy JL. Cardiopulmonary effects of anesthesia induced and maintained with isoflurane in cats. *Am J Vet Res* 1998; 59: 182-5.
- Horwitz J, Heller J. Interactions of all-trans, 9-, 11-, and 13-cis-retinal, all-trans-retinyl acetate, and retinoic acid with human retinol-binding protein and prealbumin. *J Biol Chem* 1973; 248: 6317-24.
- Houghton DC, Hartnett M, Campbell-Boswell M, Porter G, Bennett W. A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am J Pathol* 1976; 82: 589-612.
- Hsu CY, McCulloch CE, Fan D, Ordonez JD, Chertow GM, Go AS. Community-based incidence of acute renal failure. *Kidney Int* 2007; 72: 208-12.
- Humes HD. Aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int* 1988; 33: 900-11.
- Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, Sanicola M. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem* 1998; 273: 4135-42.
- Ikenaga H, Suzuki H, Ishii N, Itoh H, Saruta T. Enzymuria in non-insulin-dependent diabetic patients: signs of tubular cell dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 1993; 84: 469-75.
- Iqbal MP, Ali AA, Waqar MA, Mehboobali N. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in rheumatoid arthritis. *Exp Mol Med* 1998; 30: 165-9.
- Ishida S, Lee J, Thiele DJ, Herskowitz I. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 14298-302.
- Ito S, Ando H, Ose A, Kitamura Y, Ando T, Kusuhara H, Sugiyama Y. Relationship between the urinary excretion mechanisms of drugs and their physicochemical properties. *J Pharm Sci* 2013; 102: 3294-301.
- Johns EJ. A comparison of the ability of two angiotensin II receptor blocking drugs, 1-Sar; 8-Ala angiotensin II and 1-Sar, 8-Ile angiotensin II, to modify the regulation of glomerular filtration rate in the cat. *Br J Pharmacol* 1980; 71: 499-506.

- Kanai M, Raz A, Goodman DS. Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest* 1968; 47: 2025-44.
- Kanda Y, Goodman DS, Canfield RE, Morgan FJ. The amino acid sequence of human plasma prealbumin. *J Biol Chem* 1974; 249: 6796-805.
- Kashefi P, Montazeri K, Hashemi ST. Effect of hypertonic saline on hypotension following induction of general anesthesia: A randomized controlled trial. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 183.
- Kato M, Kato K, Goodman DS. Immunocytochemical studies on the localization of plasma and of cellular retinol-binding proteins and of transthyretin (prealbumin) in rat liver and kidney. *J Cell Biol* 1984; 98: 1696-704.
- Kaufeld JK, Gwinner W, Scheffner I, Haller HG, Schiffer M. Urinary NGAL Ratio Is Not a Sensitive Biomarker for Monitoring Acute Tubular Injury in Kidney Transplant Patients: NGAL and ATI in Renal Transplant Patients. *J Transplant* 2012; 2012: 563404.
- Kawaguchi R, Yu J, Honda J, Hu J, Whitelegge J, Ping P, Wiita P, Bok D, Sun H. A membrane receptor for retinol binding protein mediates cellular uptake of vitamin A. *Science* 2007; 315: 820-5.
- Kawai Y, Nakao T, Kunimura N, Kohda Y, Gemba M. Relationship of intracellular calcium and oxygen radicals to Cisplatin-related renal cell injury. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 65-72.
- Kelly KJ, Williams WW, Jr., Colvin RB, Bonventre JV. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 812-6.
- Kelly KJ, Williams WW, Jr., Colvin RB, Meehan SM, Springer TA, Gutierrez-Ramos JC, Bonventre JV. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal injury. *J Clin Invest* 1996; 97: 1056-63.
- Kent MS. Cats and chemotherapy: treat as 'small dogs' at your peril. *J Feline Med Surg* 2013; 15: 419-24.
- Kerl ME, Cook CR. Glomerular filtration rate and renal scintigraphy. *Clin Tech Small Anim Pract* 2005; 20: 31-8.
- Kern W, Braess J, Kaufmann CC, Wilde S, Schleyer E, Hiddemann W. Microalbuminuria during cisplatin therapy: relation with pharmacokinetics and implications for nephroprotection. *Anticancer Res* 2000; 20: 3679-88.
- Kim HY. Renal handling of ammonium and Acid base regulation. *Electrolyte Blood Press* 2009; 7: 9-13.
- Kirchheim H, Ehmke H, Fischer S, Lowe W, Persson P. Sympathetic modulation of the pressure-dependent renin release in conscious dogs. *Clin Exp Hypertens A* 1987a; 9 Suppl 1: 167-80.
- Kirchheim HR, Ehmke H, Hackenthal E, Lowe W, Persson P. Autoregulation of renal blood flow, glomerular filtration rate and renin release in conscious dogs. *Pflugers Arch* 1987b; 410: 441-9.
- Knights KM, Tsoutsikos P, Miners JO. Novel mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced renal toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005; 1: 399-408.
- Koch Nogueira PC, Hadj-Aissa A, Schell M, Dubourg L, Brunat-Mentigny M, Cochat P. Long-term nephrotoxicity of cisplatin, ifosfamide, and methotrexate in osteosarcoma. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: 572-5.
- Komhoff M, Grone HJ, Klein T, Seyberth HW, Nusing RM. Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: implication for renal function. *Am J Physiol* 1997; 272: F460-8.
- Kourembanas S, McQuillan LP, Leung GK, Faller DV. Nitric oxide regulates the expression of vasoconstrictors and growth factors by vascular endothelium under both normoxia and hypoxia. *J Clin Invest* 1993; 92: 99-104.

- Kuhlmann MK, Burkhardt G, Kohler H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2478-80.
- Lajer H, Kristensen M, Hansen HH, Nielsen S, Frokiaer J, Ostergaard LF, Christensen S, Daugaard G, Jonassen TE. Magnesium depletion enhances cisplatin-induced nephrotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 535-42.
- Lambers Heerspink HJ, Brinkman JW, Bakker SJ, Gansevoort RT, de Zeeuw D. Update on microalbuminuria as a biomarker in renal and cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15: 631-6.
- Langston CE. Acute renal failure caused by lily ingestion in six cats. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220: 49-52, 36.
- Lewin SN, Mutch DG, Whitcomb BP, Liapis H, Herzog TJ. Three cases of hemolytic uremic syndrome in ovarian cancer patients treated with combination gemcitabine and pegylated liposomal doxorubicin. *Gynecol Oncol* 2005; 97: 228-33.
- Liang M, Knox FG. Nitric oxide enhances paracellular permeability of opossum kidney cells. *Kidney Int* 1999; 55: 2215-23.
- Liano F, Pascual J. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int* 1996; 50: 811-8.
- Lieberthal W, Triaca V, Levine J. Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: apoptosis vs. necrosis. *Am J Physiol* 1996; 270: F700-8.
- Linas S, Whittenburg D, Repine JE. Nitric oxide prevents neutrophil-mediated acute renal failure. *Am J Physiol* 1997; 272: F48-54.
- Ling H, Edelstein C, Gengaro P, Meng X, Lucia S, Knotek M, Wangsiripaisan A, Shi Y, Schrier R. Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol* 1999; 277: F383-90.
- Liu W, Yu WR, Carling T, Juhlin C, Rastad J, Ridefelt P, Akerstrom G, Hellman P. Regulation of gp330/megalin expression by vitamins A and D. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 100-7.
- Liu YL, Prowle J, Licari E, Uchino S, Bellomo R. Changes in blood pressure before the development of nosocomial acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 504-11.
- Maddens B, Heiene R, Smets P, Svensson M, Aresu L, van der Lugt J, Daminet S, Meyer E. Evaluation of kidney injury in dogs with pyometra based on proteinuria, renal histomorphology, and urinary biomarkers. *J Vet Intern Med* 2011; 25: 1075-83.
- Maddens BE, Daminet S, Demeyere K, Demon D, Smets P, Meyer E. Validation of immunoassays for the candidate renal markers C-reactive protein, immunoglobulin G, thromboxane B2 and retinol binding protein in canine urine. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 134: 259-64.
- Madias NE, Harrington JT. Platinum nephrotoxicity. *Am J Med* 1978; 65: 307-14.
- Makover A, Soprano DR, Wyatt ML, Goodman DS. Localization of retinol-binding protein messenger RNA in the rat kidney and in perinephric fat tissue. *J Lipid Res* 1989; 30: 171-80.
- Mantur M, Kemona H, Dabrowska M, Dabrowska J, Sobolewski S, Prokopowicz J. alpha1-microglobulin as a marker of proximal tubular damage in urinary tract infection in children. *Clin Nephrol* 2000; 53: 283-7.
- Marino M, Andrews D, Brown D, McCluskey RT. Transcytosis of retinol-binding protein across renal proximal tubule cells after megalin (gp 330)-mediated endocytosis. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 637-48.
- Matsubara M. Renal sodium handling for body fluid maintenance and blood pressure regulation. *Yakugaku Zasshi* 2004; 124: 301-9.

- Matsumura Y, Kuro T, Kobayashi Y, Umekawa K, Ohashi N, Takaoka M. Protective effect of SM-19712, a novel and potent endothelin converting enzyme inhibitor, on ischemic acute renal failure in rats. *Jpn J Pharmacol* 2000; 84: 16-24.
- Matzke GR, Lucarotti RL, Shapiro HS. Controlled comparison of gentamicin and tobramycin nephrotoxicity. *Am J Nephrol* 1983; 3: 11-7.
- McDonough AA. Mechanisms of proximal tubule sodium transport regulation that link extracellular fluid volume and blood pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: R851-61.
- Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. *Toxins (Basel)* 2010; 2: 2490-518.
- Moestrup SK, Cui S, Vorum H, Bregengard C, Bjorn SE, Norris K, Gliemann J, Christensen EI. Evidence that epithelial glycoprotein 330/megalin mediates uptake of polybasic drugs. *J Clin Invest* 1995; 96: 1404-13.
- Molitoris BA, Marrs J. The role of cell adhesion molecules in ischemic acute renal failure. *Am J Med* 1999; 106: 583-92.
- Monaco HL. The transthyretin-retinol-binding protein complex. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1482: 65-72.
- Monaco HL. Three-dimensional structure of the transthyretin-retinol-binding protein complex. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 1229-36.
- Mori Y, Kamada T, Ochiai R. Reduction in the incidence of acute kidney injury after aortic arch surgery with low-dose atrial natriuretic peptide: A randomised controlled trial. *Eur J Anaesthesiol* 2013;
- Morris RW, Watterson LM, Westhorpe RN, Webb RK. Crisis management during anaesthesia: hypotension. *Qual Saf Health Care* 2005; 14: e11.
- Muir W, Lerche P, Wiese A, Nelson L, Pasloske K, Whittem T. The cardiorespiratory and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in cats. *Vet Anaesth Analg* 2009; 36: 42-54.
- Mukhopadhyay B, Chinchole S, Lobo V, Gang S, Rajapurkar M. Enzymuria pattern in early post renal transplant period: Diagnostic usefulness in graft dysfunction. *Indian J Clin Biochem* 2004; 19: 14-9.
- Muto Y, Smith FR, Goodman DS. Comparative studies of retinol transport in plasma. *J Lipid Res* 1973; 14: 525-32.
- Naets JP. The role of the kidney in erythropoiesis. *J Clin Invest* 1960; 39: 102-10.
- Nambi P, Pullen M, Wu HL, Prabhakar U, Hersh L, Gellai M. Down regulation of kidney neutral endopeptidase mRNA, protein and activity during acute renal failure: possible mechanism for ischemia-induced acute renal failure in rats? *Mol Cell Biochem* 1999; 197: 53-9.
- Nantel F, Meadows E, Denis D, Connolly B, Metters KM, Giaid A. Immunolocalization of cyclooxygenase-2 in the macula densa of human elderly. *FEBS Lett* 1999; 457: 475-7.
- National Kidney F. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: S1-266.
- Navab M, Smith JE, Goodman DS. Rat plasma prealbumin. Metabolic studies on effects of vitamin A status and on tissue distribution. *J Biol Chem* 1977; 252: 5107-14.
- Newcomer ME, Jones TA, Aqvist J, Sundelin J, Eriksson U, Rask L, Peterson PA. The three-dimensional structure of retinol-binding protein. *EMBO J* 1984; 3: 1451-4.
- Nielsen BS, Borregaard N, Bundgaard JR, Timshel S, Sehested M, Kjeldsen L. Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. *Gut* 1996; 38: 414-20.
- Noiri E, Peresleni T, Miller F, Goligorsky MS. In vivo targeting of inducible NO synthase with oligodeoxynucleotides protects rat kidney against ischemia. *J Clin Invest* 1996; 97: 2377-83.

- Noy N. Retinoid-binding proteins: mediators of retinoid action. *Biochem J* 2000; 348 Pt 3: 481-95.
- O'Keefe DA, Sisson DD, Gelberg HB, Schaeffer DJ, Krawiec DR. Systemic toxicity associated with doxorubicin administration in cats. *J Vet Intern Med* 1993; 7: 309-17.
- Olsen PS, Schroeder T, Perko M, Roder OC, Agerskov K, Sorensen S, Lorentzen JE. Renal failure after operation for abdominal aortic aneurysm. *Ann Vasc Surg* 1990; 4: 580-3.
- Ortiz AM, Troncoso P, Kahan BD. Prevention of renal ischemic reperfusion injury using FTY 720 and ICAM-1 antisense oligonucleotides. *Transplant Proc* 2003; 35: 1571-4.
- Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int* 2008; 73: 994-1007.
- Pabla N, Murphy RF, Liu K, Dong Z. The copper transporter Ctr1 contributes to cisplatin uptake by renal tubular cells during cisplatin nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296: F505-11.
- Pagel PS, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Comparison of the systemic and coronary hemodynamic actions of desflurane, isoflurane, halothane, and enflurane in the chronically instrumented dog. *Anesthesiology* 1991; 74: 539-51.
- Pallet N, Chauvet S, Chasse JF, Vincent M, Avillach P, Levi C, Meas-Yedid V, Olivo-Marin JC, Nga-Matsogo D, Beaune P, Thervet E, Karras A. Urinary retinol binding protein is a marker of the extent of interstitial kidney fibrosis. *PLoS One* 2014; 9: e84708.
- Palm F, Carlsson PO. Thick ascending tubular cells in the loop of Henle: regulation of electrolyte homeostasis. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 1554-9.
- Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Faubel S, Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 405-14.
- Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3046-52.
- Penders J, Delanghe JR. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clin Chim Acta* 2004; 346: 107-18.
- Peters H, Border WA, Noble NA. From rats to man: a perspective on dietary L-arginine supplementation in human renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1640-50.
- Peterson PA. Studies on the interaction between prealbumin, retinol-binding protein, and vitamin A. *J Biol Chem* 1971; 246: 44-9.
- Poirier VJ, Thamm DH, Kurzman ID, Jeglum KA, Chun R, Obradovich JE, O'Brien M, Fred RM, 3rd, Phillips BS, Vail DM. Liposome-encapsulated doxorubicin (Doxil) and doxorubicin in the treatment of vaccine-associated sarcoma in cats. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 726-31.
- Puschner B, Poppenga RH, Lowenstine LJ, Filigenzi MS, Pesavento PA. Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19: 616-24.
- Raila J, Buchholz I, Aupperle H, Raila G, Schoon HA, Schweigert FJ. The distribution of vitamin A and retinol-binding protein in the blood plasma, urine, liver and kidneys of carnivores. *Vet Res* 2000; 31: 541-51.
- Raila J, Mathews U, Schweigert FJ. Plasma transport and tissue distribution of beta-carotene, vitamin A and retinol-binding protein in domestic cats. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 130: 849-56.
- Raila J, Neumann U, Schweigert FJ. Immunochemical localization of megalin, retinol-binding protein and Tamm-Horsfall glycoprotein in the kidneys of dogs. *Vet Res Commun* 2003a; 27: 125-35.

- Raila J, Forterre S, Kohn B, Brunnberg L, Schweigert FJ. Effects of chronic renal disease on the transport of vitamin A in plasma and urine of dogs. *Am J Vet Res* 2003b; 64: 874-9.
- Raila J, Forterre S, Schweigert FJ. Levels of retinol and retinyl esters in plasma and urine of dogs with urolithiasis. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003c; 50: 380-2.
- Raila J, Brunnberg L, Schweigert FJ, Kohn B. Influence of kidney function on urinary excretion of albumin and retinol-binding protein in dogs with naturally occurring renal disease. *Am J Vet Res* 2010; 71: 1387-94.
- Rask L, Anundi H, Peterson PA. The primary structure of the human retinol-binding protein. *FEBS Lett* 1979; 104: 55-8.
- Rask L, Anundi H, Fohlman J, Peterson PA. The complete amino acid sequence of human serum retinol-binding protein. *Ups J Med Sci* 1987; 92: 115-46.
- Richard V, Hogie M, Clozel M, Loffler BM, Thuillez C. In vivo evidence of an endothelin-induced vasopressor tone after inhibition of nitric oxide synthesis in rats. *Circulation* 1995; 91: 771-5.
- Ronne H, Ocklind C, Wiman K, Rask L, Obrink B, Peterson PA. Ligand-dependent regulation of intracellular protein transport: effect of vitamin a on the secretion of the retinol-binding protein. *J Cell Biol* 1983; 96: 907-10.
- Ross LA, Finco DR. Relationship of selected clinical renal function tests to glomerular filtration rate and renal blood flow in cats. *Am J Vet Res* 1981; 42: 1704-10.
- Ruschitzka F, Shaw S, Gygi D, Noll G, Barton M, Luscher TF. Endothelial dysfunction in acute renal failure: role of circulating and tissue endothelin-1. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 953-62.
- Russo LM, Sandoval RM, McKee M, Osicka TM, Collins AB, Brown D, Molitoris BA, Comper WD. The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells: retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney Int* 2007; 71: 504-13.
- Scarpioni L, Dall'aglio PP, Poisetti PG, Buzio C. Retinol binding protein in serum and in urine of glomerular and tubular nephropathies. *Clin Chim Acta* 1976; 68: 107-13.
- Schaub S, Wilkins JA, Antonovici M, Krokhin O, Weiler T, Rush D, Nickerson P. Proteomic-based identification of cleaved urinary beta2-microglobulin as a potential marker for acute tubular injury in renal allografts. *Am J Transplant* 2005; 5: 729-38.
- Schentag JJ, Plaut ME. Patterns of urinary beta 2-microglobulin excretion by patients treated with aminoglycosides. *Kidney Int* 1980; 17: 654-61.
- Scherberich JE. Urinary proteins of tubular origin: basic immunochemical and clinical aspects. *Am J Nephrol* 1990; 10 Suppl 1: 43-51.
- Schweigert FJ, Raila J, Haebel S. Vitamin A excreted in the urine of canines is associated with a Tamm-Horsfall like protein. *Vet Res* 2002; 33: 299-311.
- Sellgren J, Ejnell H, Elam M, Ponten J, Wallin BG. Sympathetic muscle nerve activity, peripheral blood flows, and baroreceptor reflexes in humans during propofol anesthesia and surgery. *Anesthesiology* 1994; 80: 534-44.
- Sheridan AM, Bonventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9: 427-34.
- Shibouta Y, Suzuki N, Shino A, Matsumoto H, Terashita Z, Kondo K, Nishikawa K. Pathophysiological role of endothelin in acute renal failure. *Life Sci* 1990; 46: 1611-8.
- Shidoji Y, Muto Y. Vitamin A transport in plasma of the non-mammalian vertebrates: isolation and partial characterization of piscine retinol-binding protein. *J Lipid Res* 1977; 18: 679-91.
- Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB, Siscovick DS, Stehman-Breen C. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med* 2005; 352: 2049-60.

- Smets PM, Meyer E, Maddens BE, Duchateau L, Daminet S. Urinary markers in healthy young and aged dogs and dogs with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 65-72.
- Smith JE, Goodman DS. Retinol-binding protein and the regulation of vitamin A transport. *Fed Proc* 1979; 38: 2504-9.
- Soprano DR, Wyatt ML, Dixon JL, Soprano KJ, Goodman DS. Retinol-binding protein synthesis and secretion by the rat visceral yolk sac. Effect of retinol status. *J Biol Chem* 1988; 263: 2934-8.
- Storm G, van Hoesel QG, de Groot G, Kop W, Steerenberg PA, Hillen FC. A comparative study on the antitumor effect, cardiotoxicity and nephrotoxicity of doxorubicin given as a bolus, continuous infusion or entrapped in liposomes in the Lou/M Wsl rat. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 24: 341-8.
- Tallgren M, Niemi T, Poyhia R, Raininko E, Railo M, Salmenpera M, Lepantalo M, Hynninen M. Acute renal injury and dysfunction following elective abdominal aortic surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 33: 550-5.
- Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334: 1448-60.
- Tokarz D, Poppenga R, Kaae J, Filigenzi M, Lowenstine LJ, Pesavento P. Amanitin toxicosis in two cats with acute hepatic and renal failure. *Vet Pathol* 2012; 49: 1032-5.
- Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH, Bonventre JV. Noninvasive renal diagnostic studies. *Clin Lab Med* 1988; 8: 507-26.
- Tominaga M, Fujiyama K, Hoshino T, Tanaka Y, Takeuchi T, Honda M, Mokuda O, Ikeda T, Mashiba H. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in the patients with hyperthyroidism. *Horm Metab Res* 1989; 21: 438-40.
- Trof RJ, Di Maggio F, Leemreis J, Groeneveld AB. Biomarkers of acute renal injury and renal failure. *Shock* 2006; 26: 245-53.
- Tsutsumi C, Okuno M, Tannous L, Piantedosi R, Allan M, Goodman DS, Blaner WS. Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. *J Biol Chem* 1992; 267: 1805-10.
- Tugay S, Bircan Z, Caglayan C, Arisoy AE, Gokalp AS. Acute effects of gentamicin on glomerular and tubular functions in preterm neonates. *Pediatr Nephrol* 2006; 21: 1389-92.
- Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin-C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta* 2002; 323: 121-8.
- Usuda N, Kameko M, Kanai M, Nagata T. Immunocytochemical demonstration of retinol-binding protein in the lysosomes of the proximal tubules of the human kidney. *Histochemistry* 1983; 78: 487-90.
- Vaden SL, Levine J, Breitschwerdt EB. A retrospective case-control of acute renal failure in 99 dogs. *J Vet Intern Med* 1997; 11: 58-64.
- Vaidya VS, Bonventre JV. Mechanistic biomarkers for cytotoxic acute kidney injury. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2006; 2: 697-713.
- Van de Vrie W, Jonker AM, Marquet RL, Eggermont AM. The chemosensitizer cyclosporin A enhances the toxic side-effects of doxorubicin in the rat. *J Cancer Res Clin Oncol* 1994; 120: 533-8.
- van Hoek I, Daminet S, Notebaert S, Janssens I, Meyer E. Immunoassay of urinary retinol binding protein as a putative renal marker in cats. *J Immunol Methods* 2008; 329: 208-13.
- van Hoek I, Lefebvre HP, Peremans K, Meyer E, Croubels S, Vandermeulen E, Kooistra H, Saunders JH, Binst D, Daminet S. Short- and long-term follow-up of glomerular and tubular renal markers of kidney function in hyperthyroid cats after treatment with radioiodine. *Domest Anim Endocrinol* 2009a; 36: 45-56.

- van Hoek I, Meyer E, Duchateau L, Peremans K, Smets P, Daminet S. Retinol-binding protein in serum and urine of hyperthyroid cats before and after treatment with radioiodine. *J Vet Intern Med* 2009b; 23: 1031-7.
- van Hoesel QG, Steerenberg PA, Crommelin DJ, van Dijk A, van Oort W, Klein S, Douze JM, de Wildt DJ, Hillen FC. Reduced cardiotoxicity and nephrotoxicity with preservation of antitumor activity of doxorubicin entrapped in stable liposomes in the LOU/M Wsl rat. *Cancer Res* 1984; 44: 3698-705.
- van Hoesel QG, Steerenberg PA, Dormans JA, de Jong WH, de Wildt DJ, Vos JG. Time-course study on doxorubicin-induced nephropathy and cardiomyopathy in male and female LOU/M/Wsl rats: lack of evidence for a causal relationship. *J Natl Cancer Inst* 1986; 76: 299-307.
- van Jaarsveld PP, Edelhoch H, Goodman DS, Robbins J. The interaction of human plasma retinol-binding protein and prealbumin. *J Biol Chem* 1973; 248: 4698-705.
- Vetterlein F, Petho A, Schmidt G. Distribution of capillary blood flow in rat kidney during postischemic renal failure. *Am J Physiol* 1986; 251: H510-9.
- Vetterlein F, Bludau J, Petho-Schramm A, Schmidt G. Reconstruction of blood flow distribution in the rat kidney during postischemic renal failure. *Nephron* 1994; 66: 208-14.
- Walker PD, Shah SV. Gentamicin enhanced production of hydrogen peroxide by renal cortical mitochondria. *Am J Physiol* 1987; 253: C495-9.
- Walker PD, Barri Y, Shah SV. Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. *Ren Fail* 1999; 21: 433-42.
- Wangsiripaisan A, Gengaro PE, Nemenoff RA, Ling H, Edelstein CL, Schrier RW. Effect of nitric oxide donors on renal tubular epithelial cell-matrix adhesion. *Kidney Int* 1999; 55: 2281-8.
- Wehner A, Hartmann K, Hirschberger J. Utility of serum cystatin C as a clinical measure of renal function in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2008; 44: 131-8.
- Weinberg JM, Humes HD. Mechanisms of gentamicin-induced dysfunction of renal cortical mitochondria. I. Effects on mitochondrial respiration. *Arch Biochem Biophys* 1980; 205: 222-31.
- Weinberg JM, Harding PG, Humes HD. Mechanisms of gentamicin-induced dysfunction of renal cortical mitochondria. II. Effects on mitochondrial monovalent cation transport. *Arch Biochem Biophys* 1980; 205: 232-9.
- Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 543-51.
- Whelton A. Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications. *Am J Med* 1999; 106: 13S-24S.
- Wilkes BM, Mailloux LU. Acute renal failure. Pathogenesis and prevention. *Am J Med* 1986; 80: 1129-36.
- Winston JA, Safirstein R. Reduced renal blood flow in early cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Am J Physiol* 1985; 249: F490-6.
- Worwag S, Langston CE. Acute intrinsic renal failure in cats: 32 cases (1997-2004). *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 728-32.
- Yamate J, Sato K, Ide M, Nakanishi M, Kuwamura M, Sakuma S, Nakatsuji S. Participation of different macrophage populations and myofibroblastic cells in chronically developed renal interstitial fibrosis after cisplatin-induced renal injury in rats. *Vet Pathol* 2002; 39: 322-33.
- Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci* 2007; 334: 115-24.
- Yu H, Yanagisawa Y, Forbes MA, Cooper EH, Crockson RA, MacLennan IC. Alpha-1-microglobulin: an indicator protein for renal tubular function. *J Clin Pathol* 1983; 36: 253-9.

- Zhong M, Kawaguchi R, Ter-Stepanian M, Kassai M, Sun H. Vitamin A transport and the transmembrane pore in the cell-surface receptor for plasma retinol binding protein. *PLoS One* 2013; 8: e73838.
- Zsengeller ZK, Ellezian L, Brown D, Horvath B, Mukhopadhyay P, Kalyanaraman B, Parikh SM, Karumanchi SA, Stillman IE, Pacher P. Cisplatin nephrotoxicity involves mitochondrial injury with impaired tubular mitochondrial enzyme activity. *J Histochem Cytochem* 2012; 60: 521-9.
- Zuk A, Bonventre JV, Brown D, Matlin KS. Polarity, integrin, and extracellular matrix dynamics in the postischemic rat kidney. *Am J Physiol* 1998; 275: C711-31.

IX. ANHANG

1. Allgemeine Daten, Serumkreatinin und Blutdruck

Katze Nr.	Alter Jahre	Rasse	Geschlecht	Sitzung Nr.	Gewicht kg	TSL-D Dosis mg/kg	Hyperthermie	Dauer Min	Serumkreatinin μmol/l	min MAP mmHg
I	8	EKH	wk	A	4,44	0,1	nein	105	105	40
				B	4,91	0,1	ja	180	114	40
				C	4,98	0,1	ja	180	102	40
				E	4,75	0,2	ja	215	85	40
				G	4,58	0,4	ja	310	72	60
II	11	EKH	wk	A	3,46	0,1	nein	185	68	55
				B	3,46	0,2	ja	180	56	55
III	11	EKH	mk	B	5,14	0,1	ja	160	62	50
				C	4,45	0,1	ja	160	65	50
IV	11	EKH	mk	B	7,22	0,1	ja	175	95	52
				C	7,46	0,1	ja	180	105	50
				D	7,15	0,2	ja	165	102	46
				E	7,35	0,2	ja	170	124	43
				F	7,28	0,4	ja	155	130	41
V	10	NWK	wk	A	3,8	0,1	nein	150	83	54
				B	3,71	0,1	ja	165	74	48
				C	3,53	0,1	ja	170	72	36
				D	3,36	0,2	ja	165	73	30
VI	14	EKH	wk	A	5,6	0,4	nein	115	98	58
				B	5,2	0,4	ja	200	86	69
				C	4,7	0,4	ja	150	81	39
				F	4,6	0,4	ja	120	84	59
				G	4,5	0,4	ja	150	75	40
VII	12	EKH	mk	A	4,5	0,4	nein	135	108	32
				B	4,5	0,4	ja	163	106	40
				C	4,5	0,4	ja	143	125	50
				D	4,5	0,4	ja	120	107	59
				E	4,4	0,4	ja	135	115	40
				F	4,3	0,4	ja	130	100	40
				G	4,3	0,4	ja	150	117	32
VIII	12	EKH	wk	C	4,2	0,4	ja	125	120	30

Katze Nr.	Alter Jahre	Rasse	Geschlecht	Sitzung Nr.	Gewicht kg	TSL-D Dosis mg/kg	Hyperthermie	Dauer Min	Serumkreatinin μmol/l	min MAP mmHg
IX	13	EKH	mk	B	3,5	0,6	ja	180	109	43
				C	3,5	0,6	ja	190	105	40
				D	3,5	0,6	ja	150	110	50
				E	3,5	0,6	ja	180	122	40
				F	3,6	0,6	ja	180	154	49
X	10	EKH	wk	B	3,6	0,6	ja	180	81	50
				C	3,7	0,6	ja	145	100	30
				D	3,8	0,6	ja	162	114	40
				E	3,9	0,6	ja	155	129	65
				F	4	0,6	ja	205	131	44
XI	12	EKH	wk	A	6	0,6	ja	165	77	58
				B	5,7	0,6	ja	145	100	59
				C	5,5	0,6	ja	145	97	54
				D	5,5	0,6	ja	210	115	47
				E	5,4	0,6	ja	175	99	48
				F	5,5	0,8	ja	175	88	40
XII	12	EKH	wk	A	6,3	0,8	nein	180	162	45
				B	6	0,8	ja	245	127	30
				C	5,9	0,8	ja	165	129	60
				D	5,7	0,8	ja	210	128	50
				E	5,74	0,8	ja	180	117	64
				F	5,54	0,8	ja	170	112	40
				G	5,53	0,8	ja	180	141	56
XIII	11	EKH	mk	A	5,6	0,8	ja	230	121	59
				B	5,4	0,8	ja	210	114	54
				C	5,63	0,8	ja	165	114	59

Nr. = Nummer; EKH = Europäische Kurzhaarkatze; NWK = Norwegische Waldkatze; mk = männlich kastriert; wk = weiblich kastriert; TSL-D = Thermosensitive Liposomen mit Doxorubicin; min = minimal; MAP = mittlerer arterieller Blutdruck

2. Kreatininkonzentrationen im Urin, Retinol-binding Protein-Konzentrationen, sowie Retinol-binding Protein-Kreatinin-Quotienten im Urin

Katze Nr.	Sitzung Nr.	prä uKrea g/l	post uKrea g/l	Diff uKrea g/l	prä uRBP µg/l	post uRBP µg/l	Diff uRBP µg/l	prä uRBP/c µg/g	post uRBP/c µg/g	Diff uRBP/c µg/g
I	A	2,513	0,815	1,698	1,36	2,29	0,93	0,54	2,81	2,27
	B	2,637	1,386	1,251	14,52	10,43	-4,09	5,51	7,53	2,02
	C	1,139	0,284	0,855	1,36	1,36	0,00	1,19	4,79	3,59
	E	0,637	0,417	0,22	1,36	1,36	0,00	2,14	3,26	1,13
	G	2,853	1,005	1,848	7,30	1,90	-5,40	2,56	1,89	-0,67
II	A	0,291	0,237	0,054	1,36	1,36	0,00	4,67	5,74	1,06
	B	1,811	1,79	0,021	1,36	1,36	0,00	0,75	0,76	0,01
III	B	0,324	0,337	-0,013	3,61	4,15	0,54	11,14	12,33	1,18
	C	0,505	0,489	0,016	15,69	13,49	-2,20	31,08	27,59	-3,48
IV	B	1,717	0,55	1,167	1,36	1,36	0,00	0,79	2,47	1,68
	C	1,651	0,874	0,777	1,58	1,36	-0,22	0,96	1,56	0,60
	D	2,799	1,555	1,244	1,79	1,36	-0,43	0,64	0,87	0,24
	E	1,348	0,459	0,889	1,36	1,36	0,00	1,01	2,96	1,95
	F	3,424	0,645	2,779	1,36	1,36	0,00	0,40	2,11	1,71
V	A	1,13	0,163	0,967	1,54	1,36	-0,18	1,36	8,34	6,98
	B	1,205	0,352	0,853	1,36	1,36	0,00	1,13	3,86	2,74
	C	0,695	0,853	-0,158	1,61	1,51	-0,11	2,32	1,77	-0,55
	D	0,626	0,725	-0,099	2,58	1,40	-1,18	4,12	1,93	-2,19
VI	A	0,16	0,208	-0,048	1,36	1,36	0,00	8,50	6,54	-1,96
	B	4,137	1,558	2,579	3,82	1,93	-1,89	0,92	1,24	0,32
	C	0,713	0,185	0,528	1,36	1,36	0,00	1,91	7,35	5,44
	F	0,433	0,601	-0,168	1,36	1,36	0,00	3,14	2,26	-0,88
	G	0,162	0,235	-0,073	1,36	1,36	0,00	8,40	5,79	-2,61
VII	A	0,363	0,313	0,05	1,36	1,36	0,00	3,75	4,35	0,60
	B	0,418	0,326	0,092	1,36	2,39	1,03	3,25	7,34	4,09
	C	0,544	0,53	0,014	1,36	1,36	0,00	2,50	2,57	0,07
	D	0,457	0,7	-0,243	1,36	1,36	0,00	2,98	1,94	-1,03
	E	0,84	1,033	-0,193	1,36	1,36	0,00	1,62	1,32	-0,30
	F	1,179	0,773	0,406	2,22	5,10	2,88	1,88	6,60	4,71
	G	0,501	0,432	0,069	1,36	1,36	0,00	2,71	3,15	0,43
VIII	C	0,796	1,648	-0,852	1,36	11,78	10,42	1,71	7,15	5,44

Katze Nr.	Sitzung Nr.	prä uKrea g/l	post uKrea g/l	Diff uKrea g/l	prä uRBP µg/l	post uRBP µg/l	Diff uRBP µg/l	prä uRBP/c µg/g	post uRBP/c µg/g	Diff uRBP/c µg/g
IX	B	1,89	1,35	0,54	8,91	10,40	1,48	4,72	7,70	2,99
	C	2,663	0,748	1,915	1,83	1,36	-0,47	0,69	1,82	1,13
	D	0,475	0,419	0,056	11,02	12,79	1,77	23,20	30,53	7,32
	E	0,488	0,456	0,032	17,95	16,46	-1,49	36,78	36,10	-0,68
	F	0,433	0,345	0,088	20,86	20,41	-0,45	48,17	59,14	10,98
X	B	2,916	1,421	1,495	1,36	1,72	0,36	0,47	1,21	0,74
	C	1,738	1,265	0,473	11,99	12,37	0,38	6,90	9,78	2,88
	D	1,934	1,431	0,503	1,36	1,36	0,00	0,70	0,95	0,25
	E	3,233	3,531	-0,298	1,36	1,36	0,00	0,42	0,39	-0,04
	F	2,236	1,31	0,926	1,36	1,36	0,00	0,61	1,04	0,43
XI	A	2,666	2,461	0,205	12,64	8,82	-3,82	4,74	3,59	-1,16
	B	4,653	2,204	2,449	7,48	3,82	-3,66	1,61	1,73	0,12
	C	4,971	0,596	4,375	7,13	1,36	-5,77	1,43	2,28	0,85
	D	5,037	1,914	3,123	4,70	1,36	-3,34	0,93	0,71	-0,22
	E	4,772	1,818	2,954	5,30	2,46	-2,84	1,11	1,35	0,24
	F	2,132	1,514	0,618	6,73	3,20	-3,54	3,16	2,11	-1,05
XII	A	2,791	2,624	0,167	1,36	2,66	1,30	0,49	1,01	0,53
	B	5,916	2,644	3,272	1,36	2,30	0,94	0,23	0,87	0,64
	C	2,167	2,375	-0,208	1,36	1,36	0,00	0,63	0,57	-0,05
	D	3,36	2,872	0,488	1,36	2,70	1,34	0,40	0,94	0,54
	E	3,463	2,601	0,862	1,39	1,36	-0,03	0,40	0,52	0,12
	F	3,306	1,641	1,665	3,86	1,36	-2,50	1,17	0,83	-0,34
	G	3,343	2,233	1,11	1,36	1,74	0,38	0,41	0,78	0,37
XIII	A	2,376	2,118	0,258	1,36	1,36	0,00	0,57	0,64	0,07
	B	4,17	1,531	2,639	1,36	1,70	0,34	0,33	1,11	0,78
	C	3,713	1,351	2,362	11,99	5,82	-6,17	3,23	4,31	1,08

Nr. = Nummer; uKrea = Kreatininkonzentration im Urin; uRBP = Retinol-binding Protein-Konzentration im Urin; uRBP/c = Retinol-binding Protein/Kreatinin-Quotient im Urin; Diff = post - prä = vor Anästhesiebeginn; post = vier Stunden nach Anästhesiebeginn

3. Urinspezifisches Gewicht, Urinteststreifen und Urinsediment

Katze	Sitzung	USG	USG	Protein	Protein	Glukose	Glukose	pH	pH	Sediment			
Nr.	Nr.	prä	post	prä	post	prä	post	prä	post	prä RBC	post RBC	prä WBC	post WBC
I	A	1042	1013	+	(+)	-	-	6	6	-	-	-	-
	B	1028	1022	-	-	-	-	7	7	-	-	-	-
	C	1010	1025	+	+	-	-	6	6	-	1-5	-	1-5
	E	1013	1015	(+)	+	-	-	7	6	-	1-5	5-20	-
	G	1047	1022	+	+	-	-	6	6,5	-	1-5	1-5	1-5
II	A	1008	1010	-	-	-	-	9	9	-	-	1-5	1-5
	B	1030	1025	+	+	-	-	7	7	1-5	1-5	1-5	1-5
III	B	1010	1010	-	(+)	-	-	7	8	-	-	1-5	-
	C	1031	1013	+	+	-	-	5,5	5	1-5	1-5	1-5	-
IV	B	1045	1025	+	+	-	++	6,5	6,5	20-100	>100	1-5	1-5
	C	1055	1022	+	(+)	-	-	6	6	20-100	20-100	1-5	1-5
	D	1048	1032	++	++	-	-	6	6	20-100	20-100	1-5	1-5
	E	1030	1010	+	+	-	-	7,5	6,5	20-100	>100	1-5	1-5
	F	1044	1015	-	-	-	-	6,5	8	20-100	20-100	-	-
V	A	1028	1018	+	-	-	-	7	8	1-5	20-100	1-5	1-5
	B	1022	1013	+	(+)	-	-	8	9	1-5	1-5	1-5	1-5
	C	1018	1016	(+)	+	-	-	8	7,5	1-5	1-5	1-5	1-5
	D	1020	1020	(+)	+	-	-	7,5	8	1-5	20-100	1-5	1-5
VI	A	1009	1010	+	-	-	-	8	8	-	5-20	1-5	1-5
	B	1045	1025	++	+	-	-	7,5	7	5-10	20-100	1-5	1-5
	C	1008	1012	+	+	-	-	7	7	20-100	20-100	-	1-5
	F	1011	1013	(+)	(+)	-	-	7	5	1-5	1-5	-	-
	G	1006	1010	+	-	-	-	8	6,5	1-5	-	1-5	-
VII	A	1010	1012	-	-	-	-	5	8	1-5	1-5	1-5	-
	B	1012	1012	-	-	-	-	5	6,5	-	-	-	-
	C	1017	1018	-	+	-	-	7	7	1-5	1-5	1-5	-
	D	1025	1021	+	+	-	-	7	7	1-5	-	1-5	1-5
	E	1020	1020	-	+	-	-	6	7	1-5	1-5	1-5	1-5
	F	1034	1025	-	-	-	+	6	6,5	1-5	1-5	1-5	1-5
	G	1016	1016	-	+	-	-	6	6,5	1-5	1-5	1-5	-
VIII	C	1015	1016	+	+	++	++	6,5	7	1-5	1-5	1-5	1-5

Katze	Sitzung	USG	USG	Protein	Protein	Glukose	Glukose	pH	pH	Sediment			
Nr.	Nr.	prä	post	prä	post	prä	post	prä	post	prä RBC	post RBC	prä WBC	post WBC
IX	B	1034	1028	+	+	-	-	5	6	1-5	20-100	-	5-20
	C	1035	1028	+++	+	-	-	8	7	1-5	-	-	1-5
	D	1015	1015	+	+	-	-	5	5	1-5	1-5	1-5	1-5
	E	1015	1015	+	+	-	-	5	5	1-5	1-5	-	1-5
	F	1012	1014	-	-	-	-	5	5	-	-	-	1-5
X	B	1046	1030	+	+	-	-	7	7	1-5	1-5	1-5	1-5
	C	1045	1018	+	+	-	-	8	8	-	>100	-	1-5
	D	1036	1026	++	+	-	-	8	7	1-5	>100	1-5	1-5
	E	1045	1044	+	+	-	-	8	7,5	1-5	20-100	1-5	1-5
	F	1027	1020	+	(+)	-	-	8	8	-	5-20	1-5	1-5
XI	A	1055	1048	+	+	-	-	7	7	>100	>100	-	1-5
	B	1055	1028	+	+	-	-	6	7	-	20-100	-	1-5
	C	1055	1009	-	+	-	-	6,5	7	-	-	1-5	-
	D	1042	1018	+	++	-	-	6	5	1-5	1-5	1-5	1-5
	E	1044	1019	++	+	-	-	7	7	1-5	20-100	-	-
	F	1029	1018	(+)	++	-	-	5,5	5	1-5	20-100	1-5	5-20
XII	A	1028	1026	+	(+)	-	-	8	9	-	5-20	1-5	-
	B	1040	1025	+	++	-	-	8	8	-	1-5	1-5	1-5
	C	1040	1021	-	+	-	-	6,5	7	1-5	20-100	1-5	1-5
	D	1040	1037	++	+	-	-	6	6	1-5	20-100	1-5	1-5
	E	1047	1038	+	+	-	-	6	7	1-5	20-100	1-5	1-5
	F	1038	1018	++	+	-	-	8	7	>100	>100	5-20	1-5
	G	1040	1022	+++	+	-	-	7	7	1-5	1-5	1-5	1-5
XIII	A	1025	1023	+	+	-	-	8	8	-	20-100	1-5	1-5
	B	1046	1038	+	+	-	-	6,5	5,5	-	>100	1-5	1-5
	C	1047	1021	++	++	-	-	7	7	>100	>100	-	-

Nr. = Nummer; USG = Urinspezifisches Gewicht; prä = vor Anästhesiebeginn; post = 4 Stunden nach Anästhesiebeginn; pH = pH-Wert des Urins; RBC = Erythrozyten; WBC = Leukozyten

DANKSAGUNG

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuer Dr. René Dörfelt, welcher die Idee für diese Doktorarbeit hatte und mir immer mit Rat und Tat zur Seite und Herrn Prof. Hirschberger, welche für jede offene Frage eine Lösung hatte. Dann danke ich natürlich Katja Zimmermann und Karin Troedson. Durch Ihre Studie wurde meine Doktorarbeit in dieser Art erst möglich gemacht. Weiter danke ich Anke Müller für ihre sehr zuverlässige Hilfe in der praktischen Ausführung der zahlreichen Anästhesien, Dr. Karin Weber für die fachmännische Hilfe im Labor und Dr. Sabine Bader, welche mir in Fragen der Statistik sehr geduldig zur Seite stand.